ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2020-24(3)-01

УДК: 616.748-005.4:612.12:615.214.3]-092.9

ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ТА М'ЯЗОВОГО ГОМОГЕНАТУ ЗАДНІХ КІНЦІВОК ЩУРІВ ПРИ ГОСТРІЙ ІШЕМІЇ-РЕПЕРFUЗІЇ ТА ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ КАРБАЦЕТАМОМ

Вересюк Т. О., Сельський П. Р.

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (майдан Волі, 1, м. Тернопіль, Україна, 46002)

Відповідальний за листування:
e-mail: taras-o@ukr.net

Статтю отримано 22 квітня 2020 р.; прийнято до друку 01 червня 2020 р.

Анотація. Моделювання ішемії-реперфузії зумовлює біохімічні порушення та зміни в прооксидантно-антиоксидантній системі як у сироватці крові, так і скелетних м'язах ураженої кінцівки. Вираженість локального та системного постішемного дисбалансу зменшується при корекції препаратом з групи ноотропів - крабацетамом. Мета дослідження - встановити ступінь порушення обмінних процесів на основі аналізу змін біохімічних показників у сироватці крові та м'язовому гомогенаті при ішемічно-реперфузійному порушенні, викликаному накладанням артеріального турнікету та за умов корекції крабацетамом. Проведено біохімічне дослідження сироватки крові та м'язового гомогенату 60 щурів. Ішемію моделювали накладанням гумових турнікетів SWAT на задні кінцівки тварин на рівні пахвинної складки протягом 2 годин, а реперфузію - зняттям джгута з відновленням кровообігу через 2 години після його накладання. Спостереження за тваринами здійснювали протягом 14 діб. 30 тваринам у реперфузійному періоді внутрішньоочеревинно вводили крабацетам в дозі 5 мг на кілограм маси тіла 1 раз на добу протягом 14 діб реперфузійного періоду. Виділяли сироватку крові та забирали зразки м'язової тканини нижче ділянки накладання турнікету для біохімічних досліджень. Статистичну обробку матеріалу проводили з використанням пакета програм "Microsoft Excel". Найбільші відхилення показників у сироватці крові відзначали через 1 добу реперфузії: зростання значення креатиніну на 28,16 % ($p < 0,005$), загального білірубіну - на 20,75 % ($p < 0,005$), АлАТ - на 96,14 % ($p < 0,005$), АсАТ на - 147,27 % ($p < 0,005$) та лужної фосфатази - на 70,84 % ($p < 0,005$), а також збільшення прооксидантної активності ДК - на 77,27 % ($p < 0,005$), ТК - 147,47 % ($p < 0,005$) та ТБК-АП - на 82,52 % ($p < 0,005$) на фоні зменшення активності СОД на 9,77 % ($p < 0,005$) та зростання рівня каталази на 15,37 % ($p < 0,005$) відносно значення групи контролю. Розвиток ішемії та реперфузії супроводжувався найбільшим зростанням рівня прооксидантів (ДК - на 27,55 % ($p < 0,005$), ТК - на 47,34 % ($p < 0,05$), ТБК-АП - на 62,09 % ($p < 0,005$)) у гомогенаті скелетних м'язів через 2 години після відновлення кровопостачання. Антиоксидантна активність навпаки зменшувалася - на 15,06 % ($p < 0,005$) СОД та на 8,96 % ($p < 0,005$) - каталази через 1 добу. Через 14 діб виявлено поступове зростання та повернення більшості досліджуваних значень до рівня контрольної групи. Під впливом крабацетаму біохімічні показники сироватки крові найвиразніше зменшувалися щодо значення груп без застосування корекції через 7 діб експерименту. При цьому рівень загального білірубіну був нижчий на 29,65 % ($p < 0,05$), АлАТ - на 14,95 % ($p < 0,05$), АсАТ - на 19,84 % ($p < 0,05$), лужної фосфатази - на 25,53 % ($p < 0,05$), а різниця вмісту дієнових, трієнових кон'югант та ТБК-АП найбільшою була через 1 добу - на 17,09 % ($p < 0,005$), 20,41 % ($p < 0,05$) та на 11,24 % ($p < 0,05$) відповідно. За умов корекції зростали показники активності СОД та каталази, будучи достовірно вищими, аніж у групах тварин без корекції, особливо через 7 діб реперфузії - на 29,41 % ($p < 0,005$) та на 15,71 % ($p < 0,05$) відповідно. Вміст дієнових, трієнових кон'югант та ТБК-АП м'язового гомогенату був статистично значуще меншим у групах із введенням крабацетаму, аніж у групах тварин без корекції. Найбільша відмінність між групами виявлялась через 1 добу із різницею 9,16 % ($p < 0,05$), 7,35 % ($p < 0,005$) та 16,05 % ($p < 0,05$) відповідно. Антиоксидантна активність СОД та каталази через 1 добу була вищою на 27,41 % ($p < 0,005$) та на 25,13 % ($p < 0,005$) порівняно з показниками групи тварин без введення крабацетаму. Таким чином, моделювання ішемія-реперфузії супроводжується найбільшими біохімічними порушеннями у сироватці крові - через 1 добу, а у м'язовому гомогенаті - через 2 години реперфузії. Через 14 діб експерименту більшість показників все ж не повертаються до рівня контрольної групи. Застосування корекції сприяє зменшенню вираженості біохімічних порушень на системному та локальному рівнях, особливо в періоди їх найбільших відхилень.

Ключові слова: біохімічні зміни, сироватка крові, ішемія-реперфузія, перекисне окиснення ліпідів, крабацетам.

Вступ

Гостру ішемію кінцівок визначають як будь-яке раптове порушення кровопостачання кінцівки, що загрожує її втратою [11].

Частота виникнення гострої ішемії кінцівок становить 140 випадків на 1 млн. населення в рік [10]. До 10 % усіх вогнепальних поранень у структурі бойової травми складають пошкодження магістральних судин [10]. У 67 % за умов поранення судин на догоспітальному етапі накладається турнікет, котрий може індукувати ішемічно-

реперфузійне пошкодження, що виникає при відновленні артеріального кровообігу та лежить в основі багатьох патологічних процесів [2, 3, 7].

З літературних джерел відомо, що ішемія та реперфузія - це складний багатобактерний процес із зміною клітинного метаболізму, порушенням транспорту іонів і активацією протеїназ, процесів перекисного окислення ліпідів, що призводить до клітинної загибелі та вивільнення цитотоксичних внутрішньоклітинних компо-

нентів і є наслідком не тільки ішемії, але й реоксигенації, яка часто значно активізує патологічні процеси та викликає локальні і системні порушення [2, 7, 9].

Вважається, що одним з найбільш суттєвих факторів тканинного та клітинного пошкодження є порушення у системі ПОЛ, а за результатами існуючих досліджень при моделюванні ішемії та реперфузії виникали системні порушення, що проявлялися зміною біохімічних показників сироватки крові, які однак не є чітко специфічними маркерами реперфузійного ураження, проте дають змогу робити висновки про важкість перебігу загалом [2]. При цьому залишаються недостатньо вивченими динаміка цих змін у різні періоди ішемії-реперфузії, а також методи та засоби лікування та профілактики. На сьогодні, не існує "золотих" стандартів фармакологічної корекції, здатних нівелювати або пом'якшити наслідки реперфузійного пошкодження [5, 12].

Останнім часом особливе місце серед груп препаратів, котрі застосовуються в корекції ішемічних порушень, займають ноотропи, які володіють мнемотропною, когнітивною, метаболічною, нейропротекторною, антиагрегантною та антиоксидантною дією [1].

Ми зосередили свою увагу на ендогенному модуляторі ГАМК-ергічної системи - карбацетам [4, 8]. Низкою експериментальних досліджень доведена ефективність його застосування у роботах із зменшення нейродифіциту, нейродеструкції при ЧМТ, а також ендогенної інтоксикації та оксидативного стресу при політравмі [8].

Проте, ми не знайшли жодних експериментальних робіт, присвячених використанню зазначеного препарату при ішемічно-реперфузійному пошкодженні, що спонукало нас здійснити спробу використання карбацетаму з метою корекції біохімічних порушень на системному та локальному рівнях.

Мета дослідження - встановити ступінь порушення обмінних процесів на основі аналізу змін біохімічних показників у сироватці крові та м'язовому гомогенаті при ішемічно-реперфузійному порушенні, викликаному накладанням артеріального турнікету та за умов корекції карбацетамом.

Матеріали та методи

Проведено біохімічне дослідження сироватки крові та м'язового гомогенату 60 щурів. У контрольній групі було 6 інтактних тварин.

Моделювання ішемії виконували шляхом накладення гумових турнікетів SWAT (Stretch-Wrap-And-Tuck) на задні кінцівки тварин на рівні пахвинної складки протягом 2 годин під тіопентал-натрієвим знечуленням. Реперфузію моделювали шляхом зняття джгута і відновлення кровообігу у раніше ішемізований кінцівці через 2 години після його накладання. Спостереження за тваринами здійснювали протягом 14 діб.

Під час експерименту піддослідні тварини були розподілені на три групи:

- перша дослідна група - тварини із моделюванням

ішемічно-реперфузійного пошкодження шляхом накладання артеріального турнікету на задню кінцівку протягом 2 годин (30 щурів);

- друга дослідна група - тварини із моделюванням ішемічно-реперфузійного пошкодження шляхом накладання артеріального турнікету на задню кінцівку протягом 2 годин, котрим у реперфузійному періоді із метою корекції внутрішньоочеревини вводили карбацетам в дозі 5 мг на кілограм маси тіла 1 раз на добу протягом 14 діб реперфузійного періоду (30 щурів);

- контрольна група - інтактні тварини (6 щурів).

Тварини першої та другої експериментальних груп були розподілені на 5 підгруп дослідження, по 6 тварин у кожній. Модель раннього постішемічного періоду в обох групах була представлена трьома підгрупами тварин із реперфузійними змінами через 1 і 2 години та 1 добу, а модель пізнього реперфузійного періоду - двома підгрупами тварин через 7 та 14 діб після зняття турнікету.

Евтаназію тварин здійснювали під тіопентал-натрієвим знечуленням (500 мг/кг маси тіла внутрішньоочеревинно), шляхом декапітації, після чого проводили забір біологічного матеріалу. Дослідження проведені з дотриманням основних положень Закону України № 3447 - IV від 21.02.06 р. "Про захист тварин від жорстокого поводження" (2006), Директиви Ради Європи 2010/63 ЕУ щодо експериментів на тваринах.

Кров для дослідження отримували із верхівки серця піддослідних тварин шляхом кардіотомії. Сироватку крові виділяли центрифугуванням. Шматочки м'язової тканини забирали нижче накладання турнікету (середня третина стегна). Надосадову рідину (гомогенат) використовували для біохімічних досліджень.

Біохімічні показники сироватки крові, а саме: загальний білірубін, тригліцериди, холестерин, креатинін, загальний білок, лужна фосфатаза та рівень трансаміназ (АлАт, АсАт) визначали через 2 години ішемії у кожній піддослідній групі. Дослідження проводили у міжкафедральній науково-клінічній лабораторії ТНМУ імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

За вмістом активних продуктів із тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП), а також рівнем дієнових кон'югат (ДК), трієнових кон'югат (ТК) у сироватці крові та м'язовому гомогенаті та сироватці крові оцінювали інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів.

Принцип методу визначення концентрації ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) полягає у здатності вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів, а саме малонового діальдегіду (МДА), при взаємодії з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) у кислому середовищі утворювати комплекс, інтенсивність забарвлення якого адекватна вмісту ТБК-АП. Дослідження проводили у 10 % гомогенатах скелетних м'язів та у сироватці крові [6]. Кількість ТБК виражали у мкмоль/л у сироватці крові та мкмоль/кг у гомогенатах скелетних м'язів.

Вміст ДК і ТК визначали в сироватці крові та м'язово-

му гомогенаті за методикою В. Б. Гаврилова, М. І. Мишкорудної [6].

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали на основі методу відновлення нітротетразоліа супероксидними радикалами, які утворюються при реакції між феназинметасульфатом (ФМС) і відновленою формулою нікотинаміддинуклеотиду (НАДН₂) [6].

Принцип визначення каталазної активності (КПА) ґрунтується на властивості перекису водню утворювати із солями молібдену забарвлений комплекс [6].

Одержані результати клінічних і лабораторних досліджень оброблені із застосуванням методів варіаційної статистики. Статистичну обробку матеріалу проводили з використанням пакета програм "Microsoft Excel". За умов нормального розподілу статистичну значущість різниці між середніми арифметичними оцінювали за критерієм Ст'юдента-Фішера (t). При ненормальному розподілі у непарних групах визначення статистичної значущості отриманих результатів проводили за критерієм Манна-Уїтні (U).

Результати. Обговорення

Найбільші відхилення досліджуваних показників у сироватці крові відзначають через 1 добу після зняття турнікету, а саме: статистично достовірне зростання значення креатиніну на 28,16 % ($p < 0,005$), загального білірубіну - на 20,75 % ($p < 0,005$), АлАТ - на 96,14 % ($p < 0,005$), АсАТ - на 147,27 % ($p < 0,005$) та лужної фосфатази - на 70,84 % ($p < 0,005$). Поряд з тим, у даний період виявлено зменшення рівня загального білка на 11,23 % ($p < 0,005$) та тригліцеридів - на 17,29 % ($p < 0,005$) щодо групи контрольної дослідження. Через 14 діб більшість біохімічних показників сироватки крові зменшувалися та наближувалися до значень, близьких контрольній групі, однак, рівень креатиніну, загального білірубіну, активності АлАТ, АсАТ та лужної фосфатази залишався статистично достовірно вищим від значень групи контролю на 9,65 % ($p < 0,005$), 28,96 % ($p < 0,005$), 21,93 % ($p < 0,05$), 34,9 % ($p < 0,05$) та 47,84 % ($p < 0,005$) відповідно (табл. 1).

Деякі науковці відзначають, що при ішемії та реперфузії активація вільнорадикального окиснення є одним із ключових механізмів впливу як місцевого пошкодження тканин, так і системних ускладнень загалом [2, 7, 9].

Проведені дослідження показали, що найвищого значення рівень дієнових (ДК), трієнових кон'югат (ТК) та ТБК-АП сироватки крові досягли через 1 добу експерименту, перевищуючи показники групи контролю на 77,27 % ($p < 0,005$), 147,47 % ($p < 0,005$) та 82,52 % ($p < 0,005$) відповідно. Через 14 діб, встановлено їх зменшення, однак досліджувані показники все ж залишалися вище контрольних груп на 14,05 % ($p > 0,05$), 35,37 % ($p > 0,05$) та на 25,0 % ($p < 0,05$).

Відзначено зменшення активності супероксиддисмутази сироватки крові через 1 добу на 9,77 % ($p < 0,005$) та зростання рівня каталази на 15,37 % ($p < 0,005$) у да-

ний експериментальний період відносно значення групи контролю. Через 14 діб показник СОД та каталази наблизились до показників інтактних тварин, будучи при цьому нижче їх значень на 2,25 % ($p > 0,05$) та на 7,38 % ($p < 0,05$) відповідно.

Як видно з таблиці 2, величина антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) сироватки крові у всіх термінах дослідження була статистично достовірно нижчою від групи контролю. Мінімального значення індекс досяг через 1 добу, будучи нижчим від аналогічного показника інтактної групи на 35,65 % ($p < 0,005$) та через 14 діб експерименту - на 26,4 % ($p < 0,05$).

Розвиток ішемічно-реперфузійного синдрому супроводжувався зростанням рівня прооксидантів у гомогенаті скелетних м'язів та досягав найбільших значень через 2 години після відновлення кровопостачання. Так, показник вмісту дієнових кон'югат перевищував інтактну групу на 27,55 % ($p < 0,005$), трієнових кон'югат - на 47,34 % ($p < 0,05$), а ТБК-АП - на 62,09 % ($p < 0,005$) у зазначений досліджуваний період. Через 14 діб рівень прооксидантів наближався до рівня групи контролю (табл. 3), незначно перевищуючи значення ТК (на 11,24 % ($p > 0,05$) та ТБК-АП - на 26,39 % ($p < 0,005$)).

Показники активності супероксиддисмутази та каталази на місцевому рівні навпаки зменшилися на 15,06 % ($p < 0,005$) та на 8,96 % ($p < 0,005$) через 1 добу у порівнянні із значенням контрольної групи. Через 14 діб виявлено поступове зростання та повернення досліджуваних значень до рівня контрольної групи.

Відзначають зменшення значення антиоксидантно-прооксидантного індексу у м'язовому гомогенаті щодо показника контрольної групи через 2 години на 35,91 % ($p < 0,05$), через 1 добу - на 43,81 % ($p < 0,005$), а через 14 діб - на 23,6 % ($p < 0,005$).

Під впливом карбацетаму вміст більшості біохімічних показників сироватки крові зменшувався щодо значення груп без застосування корекції у всі терміни дослідження. Найвиразніше відмінності між групами проявлялися через 7 діб, при цьому рівень загального білірубіну зменшився на 29,65 % ($p < 0,05$), АлАТ - на 14,95 % ($p > 0,05$), АсАТ - на 19,84 % ($p < 0,05$) та лужної фосфатази - на 25,53 % ($p < 0,05$) (табл. 1).

Як видно з таблиці 2 при моделюванні ішемії та реперфузії із корекцією за умов застосування карбацетаму вміст дієнових, трієнових кон'югат та ТБК-АП у сироватці крові зменшувався у всіх дослідних періодах порівняно із показниками групи без застосування корекції, а найбільше через 1 добу - на 17,09 % ($p < 0,005$), 20,41 % ($p < 0,05$) та 11,24 % ($p < 0,05$) відповідно.

Показники активності СОД та каталази у сироватці крові за умов корекції зростає, будучи статистично достовірно вищим, ніж у групах тварин без корекції, особливо через 7 діб реперфузії - на 29,41 % ($p < 0,005$) та на 15,71 % ($p < 0,05$) відповідно.

Відповідно і величина АПІ сироватки крові після застосування корекції статистично достовірно перевищує

Таблиця 1. Зміни біохімічних показників у сироватці крові білих щурів у різні періоди ішемічно-реперфузійного пошкодження та при їх корекції карбацетамом ($M \pm m$).

Показник	Контроль	1-а група, 1 год	2-а група, 2 год	3-а група, 1 доба	4-а група, 7 доба	5-а група, 14 доба
загальний білок, г/л	67,68±1,80	63,83±2,36	64,57±1,25	60,08±1,78***	62,80±1,29	61,38±0,97***
корекція		71,62±2,59*	68,3±1,47	64,05±1,75*	63,47±2,31*	66,83±1,63**
тригліцериди, ммоль/л	0,75±0,03	0,72±0,03	0,63±0,02***	0,62±0,03*	0,93±0,04*/***	0,80±0,06
корекція		0,94±0,04***	0,60±0,03***/*	0,65±0,05***	0,67±0,05	0,76±0,05
креатинін, ммоль/л	45,74±0,33	53,63±0,91***	50,93±0,76***	58,62±1,46***/*	51,03±0,94***/*	50,15±0,87***
корекція		50,98±1,05***	51,77±0,87***	54,8±1,75***	50,58±0,98***	49,42±0,84*
холестерин, ммоль/л	1,62±0,06	1,24±0,06*	1,53±0,10	1,87±0,02*/**	1,36±0,10**	1,28±0,05***
корекція		1,32±0,04*	1,35±0,06*	1,29±0,07*	1,26±0,08*	1,59±0,05**
заг.білір., ммоль/л	4,02±0,26	6,03±0,37***	7,04±0,26***	4,86±0,31***/*	4,53±0,50	5,19±0,17***
корекція		2,85±0,17***	3,69±0,21****	3,85±0,31	3,18±0,17***/*	3,35±0,21*
АлАТ, од/л	63,98±1,81	76,09±3,29*	88,78±6,36*	125,3±9,2***/*	92,87±4,35***/*	78,02±3,23*/**
корекція		77,98±3,06*	84,98±6,47*	94,04±3,94***	78,98±2,38***/*	70,12±1,20*/**
АсАТ, од/л	93,27±5,67	119,2±4,8*	155,4±11,9***/*	230,6±12,3***/*	185,6±8,8***	125,8±8,5*/**
корекція		106,8±3,3*	133,5±11,2***	207,2±10,6***/*	146,4±5,2***/*	100,4±5,5***/*
ЛФ, од/л	156,0±10,4	175,18±11,05***	181,82±9,41***	266,5±15,6***/*	298,7±13,6***	230,6±13,5***/*
корекція		167,1±12,4*	155,2±14,6	179,9±9,3*	222,5±16,1***/*	214,1±12,0***

Примітки: * - $p < 0,05$ у порівнянні з групою контролю; ** - $p < 0,05$ у порівнянні з попередньою групою; *** - $p < 0,005$ у порівнянні з групою контролю; **** - $p < 0,005$ у порівнянні з попередньою групою.

Таблиця 2. Зміни показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в сироватці крові білих щурів у різні періоди ішемічно-реперфузійного пошкодження та при їх корекції карбацетамом ($M \pm m$).

Показник	Контроль	1-а група, 1 год	2-а група, 2 год	3-а група, 1 доба	4-а група, 7 доба	5-а група, 14 доба
ДК, уо./мл	0,48±0,03	0,64±0,05	0,71±0,02***	0,86±0,05***/*	0,65±0,04***/*	0,55±0,03
корекція		0,57±0,02	0,67±0,01***/*	0,71±0,04***	0,64±0,02***	0,52±0,03**
ТК, уо./мл	0,40±0,02	0,67±0,05*	0,76±0,04***	0,98±0,06***/*	0,72±0,04***	0,54±0,02
корекція		0,58±0,02***	0,65±0,04*	0,78±0,05***	0,57±0,03*/**	0,48±0,01*
ТБК-АП, ммоль/л	3,03±0,11	3,55±0,18	4,60±0,21***/*	5,53±0,39***	4,33±0,38*	3,79±0,03*
корекція		3,32±0,12	4,09±0,17***/*	4,91±0,20***	4,06±0,30*	3,28±0,12
СОД, ум./од.	55,06±3,10	57,92±3,22	59,52±2,70***	49,68±3,46***/*	42,16±3,16***/*	53,82±2,04****
корекція		56,74±3,11***	60,32±2,82***/*	56,48±2,77***/*	54,56±2,85**	55,52±2,5
Каталаза, кат./л	33,32±1,34	31,32±1,21***	33,72±1,09	38,44±1,33***/*	31,82±0,96**	30,86±1,13*
корекція		35,32±1,0*	37,2±1,13***	40,04±0,96***/*	36,82±1,0***/*	33,7±1,43*
АПІ, уо.	11,09±0,78	8,09±0,53	7,42±0,55*/**	7,14±0,72***	7,54±0,72	8,16±0,32**
корекція		10,7±0,55	9,18±0,55*/***	8,22±0,43***	9,2±0,47	10,37±0,81

Примітки: * - $p < 0,05$ у порівнянні з групою контролю; ** - $p < 0,05$ у порівнянні з попередньою групою; *** - $p < 0,005$ у порівнянні з групою контролю; **** - $p < 0,005$ у порівнянні з попередньою групою.

вала показники дослідної групи без введення карбацетаму через 2 години на 23,76 % ($p < 0,05$), через 1 добу - на 15,12 % ($p < 0,05$), через 7 діб - на 21,89 % ($p > 0,05$), а через 14 діб - на 27,07 % ($p < 0,05$).

У процесі експерименту встановлено, що в усі терміни дослідження вміст дієнових, трієнових кон'югант та ТБК-АП м'язового гомогенату був статистично достовірно меншим у групах із введенням карбацетаму, ніж у групах тварин без корекції. Найбільша відмінність між групами виявлялась через 1 добу із різницею 9,16 %

($p < 0,05$), 7,35 % ($p < 0,005$), та 16,05 % ($p < 0,05$) відповідно (див. табл. 3).

Активність СОД та каталази у м'язовому гомогенаті при застосуванні корекції через 1 добу після зняття турнікету була вищою, ніж у групі тварин без введення карбацетаму на 27,41 % ($p < 0,005$) та на 25,13 % ($p < 0,005$) відповідно. У подальшому із збільшенням тривалості реперфузійного періоду до кінця 7 доби відмінність між групами зменшувалася та становила 8,03 % ($p < 0,05$) та 17,09 % ($p < 0,005$).

Таблиця 3. Зміни показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в гомогенатах м'язів білих щурів у різні періоди ішемічно-реперфузійного пошкодження та при їх корекції карбацетамом (M±m).

Показник	Контроль	1-а група, 1 год	2-а група, 2 год	3-а група, 1 доба	4-а група, 7 доба	5-а група, 14 доба
ДК, уо /г	0,106±0,003	0,116±0,007	0,135±0,008*	0,129±0,003*	0,115±0,006	0,110±0,003***
корекція		0,112±0,007	0,123±0,005*	0,117±0,003*	0,111±0,004***	0,107±0,004**
ТК, уо/г	0,068±0,002	0,088±0,002*	0,100±0,005*	0,090±0,002 ***	0,081±0,005	0,075±0,002
корекція		0,075±0,004	0,089±0,006*	0,083±0,002***	0,075±0,004	0,070±0,002*
ТБК-АП, ммоль/кг	5,69±0,35	6,70±0,29	9,23±0,19***/**	9,05±0,10***	7,98±0,22**	7,19±0,29***
корекція		6,10±0,25	7,62±0,41**/*	7,59± 0,25 *	6,83±0,16*	6,26±0,30***
СОД, ум./од.	67,08±3,63	69,48±3,93*	73,04±4,39**/*	56,98±3,43***/*	64,76±1,88	69,72±4,15*
корекція		71,50±4,39*	76,82±4,23***/**	72,60±3,54***/**	69,96±1,82	68,72±4,11*
Каталаза, кат /кг	41,08±1,20	42,90±0,99*	43,40±0,85***	37,40±0,87***	38,74±1,15***	40,06±0,86
корекція		45,64±0,97***	49,0±1,59***/**	46,80±0,86***	45,36±1,25***	43,86±1,65
АПІ, уо.	7,36±0,59	6,45±0,32	4,71±0,14**/*	4,13±0,07***/**	4,88±0,24**/*	5,62±0,33***/ **
корекція		7,53±0,33	6,50±0,37**	6,19±0,22	6,65±0,21	7,10±0,51

Примітки: * - $p < 0,05$ у порівнянні з групою контролю; ** - $p < 0,05$ у порівнянні з попередньою групою; *** - $p < 0,005$ у порівнянні з групою контролю; **** - $p < 0,005$ у порівнянні з попередньою групою.

У дослідній групі тварин із корекцією виявлені зміни зумовили статистично достовірне зростання показника АПІ м'язового гомогенату впродовж усього терміну постішемічного періоду у порівнянні із аналогічними показниками груп тварин без корекції, зокрема: через 2 години - на 37,93 % ($p < 0,05$), а на кінець 1 доби - на 49,7 % ($p < 0,005$). Відмінність у пізньому реперфузійному періоді становила 36,27 % - через 7 діб ($p < 0,005$) та 26,29 % ($p < 0,005$) - через 14 діб після зняття турнікету.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Отримані нами дані дають підстави вважати, що моделювання ішемічно-реперфузійного синдрому супроводжується значними змінами біохімічних показників та активацією вільнорадикального окиснення у сироватці крові вже безпосередньо у перші години після відновлення кровообігу, що свідчить про системність уражень. Найвиразніші порушення виявлялися через 1 добу після відновлення кровопостачання, а саме: зростання креатиніну на 28,16 % ($p < 0,005$), загального білірубину - на 20,75 % ($p < 0,005$), АлАТ - на 96,14 % ($p < 0,005$), АсАТ - на 147,27 % ($p < 0,005$), лужної фосфатази - на 70,84 % ($p < 0,005$), а також ДК - на 77,27 % ($p < 0,005$), ТК - на 147 % ($p < 0,005$) та ТБК-АП - на 82,52 % ($p < 0,005$) на тлі зниження антиоксидантної активності каталази на 9,77 % ($p < 0,005$) у даний експериментальний період.

2. Інтенсифікація процесів ПОЛ у скелетних м'язах відбувається швидше (через 2 години експерименту) та проявляється зростанням до найбільших значень ДК на 27,55 % ($p < 0,05$), ТК - на 47,34 % ($p < 0,05$), ТБК-АП - на 62,09 % ($p < 0,005$) та зниженням активності антиоксидантних систем СОД на 8,80 % ($p < 0,05$) та каталази - на 8,96 % ($p < 0,005$) у м'язовому гомогенаті. У подальшому,

через 14 діб експерименту, більшість досліджуваних показників поверталися до рівня контрольної групи.

3. Під впливом карбацетаму через 1 добу реперфузії у порівнянні із показниками тварин без коригуючої терапії виявлено істотно нижчі рівні АлАТ (на 25,07 %; $p < 0,05$), АсАТ (на 10,14 %; $p < 0,05$), креатиніну (на 6,51 %; $p < 0,05$), лужної фосфатази (на 32,48 %; $p < 0,05$), ДК (на 17,09%; $p < 0,005$), ТК (на 20,4%; $p < 0,05$) та ТБК-АП (на 11,24 %; $p < 0,05$). Застосування карбацетаму, порівняно з тваринами без корекції, супроводжується зростанням активності СОД і каталази сироватки крові, найбільше через 7 діб реперфузії, на 29,4 % ($p < 0,005$) та на 15,7 % ($p < 0,05$) відповідно.

4. Корекція зумовлює деяке зменшення продуктів вільнорадикального окиснення у м'язовому гомогенаті через 2 години реперфузії, а саме: ДК - на 9,32 % ($p < 0,05$), ТК - на 10,44 % ($p < 0,05$), ТБК АП - на 17,43 % ($p < 0,05$) та зростання антиоксидантної активності СОД та каталази на 5,18 % ($p < 0,05$) і 12,9 % ($p < 0,005$) відповідно у порівнянні з показниками дослідної групи без корекції.

Отримані дані можуть бути використані при визначенні закономірностей системних та локальних порушень в патогенезі реперфузійного ураження, а також для оцінки ступеня важкості постішемічного пошкодження залежно від періоду відновлення кровопостачання. Виявлені результати можуть стати теоретичним підґрунтям для подальшого вивчення проблематики медикаментозної корекції реперфузійного пошкодження на загальному та місцевому рівнях, а також можливостей для застосування карацетаму як засобу профілактики та лікування патологічних станів, що обумовлені ішемічним чи постішемічним пошкодженням тканин таких як: компартмент-синдром, артеріальні тромбози, або у випадках ускладнень при хронічній ішемії.

Список посилань

1. Гамзин, С. С., Алексеева, Л. В., & Лапина, Г. П. (2015). Методологические аспекты биохимического и фармакологического анализа влияния ноотропов на пептидергическую систему и метаболизм в целом. *Вестник Тверского государственного университета. Серия: Биология и экология*, 3, 40-52. Взято с <http://eprints.tversu.ru/6340/>
2. Генник, С. М., & Симич, А. В. (2016). Реперфузійний синдром після ревазуляризації ішемії нижніх кінцівок. *Серце і судини*, 3, 104-108. Взято з http://nbuv.gov.ua/UJRN/sis_2016_3_13
3. Засимович, В. Н., & Иоскевич, Н. Н. (2017). Реперфузионно-реоксигенационный синдром как проблема реконструктивной хирургии артерий при хронической ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза. *Новости хирургии*, 25 (6), 632-642. Взято с <https://cyberleninka.ru/article/n/reperfuzionno-reoksigenatsionnyy-sindrom-kak-problema-rekonstruktivnoy-hirurgii-arteriy-pri-hronicheskoy-ishemii-nizhnih>
4. Кметь, О. Г. (2018). Вплив карбацетаму на показники системи оксиду азоту в гіпокампі щурів із хворобою Альцгеймера. *Одеський медичний журнал*, 5 (169), 5-8. Взято з http://files.odmu.edu.ua/journal/OMJ_2018.05/m185.pdf#page=7
5. Лихванцев, В. В., Гребенчиков, О. А., Шмелева, Е. А., & Скрипкин, Ю. В. (2013). Анестетическое preconditioning: Почему данные, полученные в эксперименте, не всегда подтверждаются в клинике? *Вестник анестезиологии и реаниматологии*, 10 (4), 9-14.
6. Макаров, В. Г., & Макарова, М. Н. (Ред.). (2013). *Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных*. СПб.: Изд-во "Лема". ISBN 978-5-98709-619-2
7. Мальченко, О. А. (2016). *Патогенетичне обґрунтування підходів до корекції пошкодження тканин кінцівок при експериментальному реперфузійному синдромі*. (Дис. к. мед. н.). Київ.
8. Стародубська, О. О. (2017). Ступінь неврологічного дефіциту при черепно-мозковій травмі та його корекція. *Актуальні проблеми транспортної медицини*, 1 (47), 143-148.
9. Blaisdell, F. W. (2002). The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc. Surg.*, 10 (6), 620-630.
10. Dick, F., Li, J., Giraud, M. N., Kalka, C., Schmidli, J., & Tevaearai, H. (2008). Basic control of reperfusion effectively protects against reperfusion injury in a realistic rodent model of acute limb ischemia. *Circulation*, 118 (19), 1920-1928. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.787754
11. Elsharawy M. A., Elsaid, A. S., & Elsharawi, I. (2014). Reperfusion of Delayed Acute Occlusive Limb Ischemia: Is It Worthwhile? *World Journal of Cardiovascular Diseases*, 4 (12), 580-585. DOI: 10.4236/wjcd.2014.412070
12. Kohlhauser, M., Pell, V. R., Burger, N., Spiroski A. M., Gruszczak A., Mulvey, J. F., ... & Krieg, T. (2019). Protection against cardiac ischemia-reperfusion injury by hypothermia and by inhibition of succinate accumulation and oxidation is additive. *Basic Research in Cardiology*, 114 (18), 114-124. <https://doi.org/10.1007/s00395-019-0727-0>
- [Methodological aspects of biochemical and pharmacological analysis of the effect of nootropics on the peptidergic system and metabolism in general]. *Vestnik Tverskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya i ekologiya*, 3, 40-52. Vzyato s <http://eprints.tversu.ru/6340/>
2. Henyk, S. M., & Symchych, A. V. (2016). Reperfuziyni syndrom pislia revaskulyaryzatsii ishemii nyzhnikh kintsivok [Reperfusion syndrome after revascularization of lower extremity ischemia]. *Sertse i sudyny - Heart and blood vessels*, 3, 104-108. Vziato z http://nbuv.gov.ua/UJRN/sis_2016_3_13
3. Zasimovich, V. N., & Ioskevich, N. N. (2017). Reperfuzionno-reoksigenatsionnyi sindrom kak problema rekonstruktivnoi khirurgii arterii pri khronicheskoi ishemii nizhnikh konechnostei ateroskleroticheskogo geneza [Reperfusion-reoxygenation syndrome as a problem of reconstructive surgery of arteries in chronic ischemia of the lower extremities of atherosclerotic genesis]. *Novosti khirurgii - Surgery news*, 25 (6), 632-642. Vzyato s <https://cyberleninka.ru/article/n/reperfuzionno-reoksigenatsionnyy-sindrom-kak-problema-rekonstruktivnoy-hirurgii-arteriy-pri-hronicheskoy-ishemii-nizhnih>
4. Kmet, O. H. (2018). Vplyv kapbatsetamu na pokaznyky systemy oksydu azotu v hipokampi shchupiv iz khvopoboiu Altsheimepa [Influence of cabacetam on the parameters of the nitric oxide system in the hippocampus of probes with Alzheimer's disease]. *Odeskyi medychnyi zhurnal - Odessa Medical Journal*, 5 (169), 5-8. Vziato z http://files.odmu.edu.ua/journal/OMJ_2018.05/m185.pdf#page=7
5. Lihvancev, V. V., Gpebenchikov, O. A., Shmeleva, E. A., & Skpipkin, YU. V. (2013). Anesteticheskoe ppekondicionipovanie: Pochemu dannye, poluchennye v ehkspeimente, ne vseгда podtvepzhdayutsya v klinike? [Anesthetic preconditioning: Why is the data obtained in the experiment not always confirmed in the clinic?]. *Vestnik anesteziologii i peanimatologii - Bulletin of Anesthesiology and Reanimatology*, 10 (4), 9-14.
6. Makarov, V. G., & Makarova, M. N. (Red.). (2013). *Spravochnik. Fiziologicheskie, biokhimicheskie i biometricheskie pokazateli normy ehksperimental'nykh zhivotnykh* [Directory. Physiological, biochemical and biometric indicators of the norm of experimental animals]. SPb.: Izd-vo "LemA". ISBN 978-5-98709-619-2
7. Malchenko, O. A. (2016). *Patohenetychne obhpuntuvannia pidkhodiv do kopektsii poshkodzen tkanyh kintsivky ppy ehkspeymentalnomu pepepfuziinomu syndpomi*. (Dys. k. med. n.) [Pathogenetic substantiation of approaches to the correction of limb tissue damage in experimental perfusion syndrome]. (Dis. Ph. D.). Kyiv.
8. Starodubska, O. O. (2017). Stupin nevplohichnoho defitsytu ppy chepepno-mozkovii tpavmi ta yoho kopektsiia [The degree of neurological deficit in craniocerebral trauma and its correction]. *Aktual'nye ppoblemy tpanspoptnoj medicyny - Current problems of transport medicine*, 1 (47), 143-148.
9. Blaisdell, F. W. (2002). The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc. Surg.*, 10 (6), 620-630.
10. Dick, F., Li, J., Giraud, M. N., Kalka, C., Schmidli, J., & Tevaearai, H. (2008). Basic control of reperfusion effectively protects against reperfusion injury in a realistic rodent model of acute limb ischemia. *Circulation*, 118 (19), 1920-1928. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.787754
11. Elsharawy M. A., Elsaid, A. S., & Elsharawi, I. (2014). Reperfusion of Delayed Acute Occlusive Limb Ischemia: Is It Worthwhile? *World Journal of Cardiovascular Diseases*, 4 (12), 580-585. DOI: 10.4236/wjcd.2014.412070
12. Kohlhauser, M., Pell, V. R., Burger, N., Spiroski A. M., Gruszczak A., Mulvey, J. F., ... & Krieg, T. (2019). Protection against cardiac ischemia-reperfusion injury by hypothermia and by inhibition of succinate accumulation and oxidation is additive. *Basic Research in Cardiology*, 114 (18), 114-124. <https://doi.org/10.1007/s00395-019-0727-0>

References

1. Gamzin, S. S., Alekseeva, L. V., & Lapina, G. P. (2015). Metodologicheskie aspekty biokhimicheskogo i farmakologicheskogo analiza vlianiia nootropov na peptidergicheskuiu sistemuu i metabolism v tselom

A., Mulvey, J. F., ... & Krieg, T. (2019). Protection against cardiac ischemia-reperfusion injury by hypothermia and by inhibition of succinate accumulation and oxidation is additive.

Basic Research in Cardiology, 114 (18), 114-124. <https://doi.org/10.1007/s00395-019-0727-0>

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ И МЫШЕЧНОГО ГОМОГЕНАТА ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ И ПРИ КОРРЕКЦИИ КАРБАЦЕТАМОМ

Вересюк Т. О., Сельский П. Р.

Аннотация. Моделирование ишемии-реперфузии вызывает биохимические нарушения и изменения в прооксидантно-антиоксидантной системе как в сыворотке крови, так и скелетных мышцах пораженной конечности. Выраженность локального и системного постischemического дисбаланса уменьшается при коррекции препаратом из группы ноотропов - карбацетамом. Цель исследования - установить степень нарушения обменных процессов на основе анализа изменений биохимических показателей в сыворотке крови и мышечном гомогенате при ишемическо-реперфузионном нарушении, вызванном наложением артериального турникета и в условиях коррекции карбацетамом. Проведено биохимическое исследование сыворотки крови и мышечного гомогената 60 крыс. Ишемию моделировали наложением резиновых турникетов SWAT на задние конечности животных на уровне паховой складки в течение 2 часов, а реперфузию - снятием жгута с восстановлением кровообращения через 2 часа после его наложения. Наблюдение за животными осуществляли в течении 14 суток. 30 животным в реперфузионном периоде внутривенно вводили карбацетам в дозе 5 мг на килограмм массы тела 1 раз в сутки в течении 14 суток реперфузионного периода. Выделяли сыворотку крови и забирали образцы мышечной ткани ниже участка наложения турникета для биохимических исследований. Статистическую обработку материалов проводили с использованием пакета программ "Microsoft Excel". Наибольшие отклонения показателей в сыворотке крови отмечали через 1 сутки реперфузии: рост значения креатинина на 28,16 % ($p < 0,005$), общего билирубина - на 20,75 % ($p < 0,005$), АЛТ - на 96,14 % ($p < 0,005$), АсАТ - на 147,27 % ($p < 0,005$) и щелочной фосфатазы - на 70,84 % ($p < 0,005$), а также увеличение прооксидантной активности ДК на 77,27 % ($p < 0,005$), ТК - 147,47 % ($p < 0,005$) и ТБК-АП - на 82,52 % ($p < 0,005$) на фоне уменьшения активности СОД на 9,77 % ($p < 0,005$) и рост уровня каталазы на 15,37 % ($p < 0,005$) относительно значения группы контроля. Развитие ишемии и реперфузии сопровождалось наибольшим ростом уровня прооксидантов (ДК - на 27,55 % ($p < 0,005$), ТК - на 47,34 % ($p < 0,05$), ТБК-АП - на 62,09 % ($p < 0,005$)) в гомогенате скелетных мышц через 2 часа после восстановления кровоснабжения. Антиоксидантная активность наоборот уменьшалась - на 15,06 % ($p < 0,005$) СОД и на 8,96 % ($p < 0,005$) - каталазы через 1 сутки. Через 14 суток обнаружен постепенный рост и возвращение большинства исследуемых значений до уровня контрольной группы. Под влиянием карбацетама биохимические показатели сыворотки крови отчетливо уменьшались относительно значения групп без применения коррекции через 7 суток эксперимента. При этом уровень общего билирубина был ниже на 29,65 % ($p < 0,05$), АЛТ - на 14,95 % ($p < 0,05$), АсАТ - на 19,84 % ($p < 0,05$), щелочной фосфатазы - на 25,53 % ($p < 0,05$), а разница содержания диеновых, триеновых конъюгантов и ТБК-АП мышечного гомогената было статистически достоверно меньше в группах с введением карбацетама, чем в группах животных без коррекции. Самое большое отличие между группами выявлялось через 1 сутки с разницей 9,16 % ($p < 0,05$), 7,35 % ($p < 0,005$) и 16,05 % ($p < 0,05$) соответственно. Антиоксидантная активность СОД и каталазы через 1 сутки была выше на 27,41 % ($p < 0,005$) и на 25,13 % ($p < 0,005$) по сравнению с показателями группы животных без введения карбацетама. Таким образом, моделируемая ишемия-реперфузия сопровождается самыми большими биохимическими нарушениями в сыворотке крови - через 1 сутки, а в мышечном гомогенате - через 2 часа реперфузии. Через 14 суток эксперимента большинство показателей все же не возвращаются к уровню контрольной группы. Применение коррекции способствует уменьшению выраженности биохимических нарушений на системном и локальном уровнях особенно в периоды их наибольших отклонений.

Ключевые слова: биохимические изменения, сыворотка крови, ишемия-реперфузия, перекисное окисление липидов, карбацетам.

CHANGES OF BIOCHEMICAL INDICATORS OF BLOOD SERUM AND THE SKELETAL MUSCLE HOMOGENATE OF THE HIND LIMBS OF THE RATS IN ACUTE ISCHEMIA-REPERFUSION AND IN THE CONDITION OF USING OF THE CARBACETAM

Veresiuk T. O., Selsky P. R.

Annotation. Simulation of ischemia-reperfusion causes the biochemical disorders and changes in the prooxidant-antioxidant system, both in the serum and skeletal muscles of the affected limb. The severity of local and systemic postischemic imbalance decreases in with correction with medicine from the group of nootropics - carabacetam. The aim of the study was determining the degree of metabolic disorders based on the analysis of changes in serum biochemical parameters and muscle homogenate in ischemic-reperfusion disorders caused by the imposition of an arterial tourniquet and under conditions of correction with carabacetam. Materials and methods. A biochemical study of blood serum and muscle homogenate of 60 rats was performed. Ischemia was simulated by applying SWAT rubber tourniquets on the hind limbs of the rats, on the inguinal fold, for 2 hours, and reperfusion was modeled by removing the tourniquet and restoring of blood circulation through 2 hours after its application. Observations of the animals were carried out during for 14 days. 30 rats in the reperfusion period were intraperitoneally administered the carbacetam at a dose of 5 mg per kilogram of body weight 1 time a day for 14 days of the reperfusion period. The Blood serum was separated and the soft tissue samples were taken below the tourniquet site for the biochemical studies. Statistical processing of the material was performed using the package of programs "Microsoft Excel". The largest deviations in serum were observed after 1 day of the reperfusion: an increase in creatinine by 28.16 % ($p < 0.005$), total bilirubin by 20.75 % ($p < 0.005$), ALT by 96.14 % ($p < 0.005$), AST by 147.27 % ($p < 0.005$) and alkaline phosphatase by 70.84 % ($p < 0.005$), as well as an increase in prooxidant activity of CD by 77.27 % ($p < 0.005$), CT 147.47 %

($p < 0.005$) and TBC-AL by 82.52 % ($p < 0.005$) against the background of a decrease in SOD activity by 9.77 % ($p < 0.005$) and an increase in catalase levels by 15.37 % ($p < 0.005$) relative to the value of the control group. The development of ischemia and reperfusion was accompanied by the largest increase in the level of prooxidants (CD - by 27.55 % ($p < 0.005$), CT - by 47.34 % ($p < 0.05$), TBC-AL - by 62.09 % ($p < 0.005$)) in the homogenate of the skeletal muscles after 2 hours after restoration of the blood supply. Antioxidant activity, on the other hand, decreased by 15.06 % ($p < 0.005$) SOD and by 8.96 % ($p < 0.005$) catalase after 1 day. After 14 days, a gradual increase and return of most of the studied values to the level of the control group. Under the influence of the carbacetam, the biochemical parameters of blood serum most significantly decreased in relative to the value of the groups without correction after 7 days of the experiment. The level of total bilirubin was lower by 29.65 % ($p < 0.05$), ALT by 14.95 % ($p < 0.05$), AST by 19.84 % ($p < 0.05$), alkaline phosphatase by 25.53 % ($p < 0.05$), and the difference in the content of diene, triene conjugates and TBC-LP was the largest after 1 day - by 17.09 % ($p < 0.005$), 20.41 % ($p < 0.05$) and 11.24 % ($p < 0.05$), respectively. Under the conditions of correction, the indicators of SOD and catalase activity increased, being significantly higher than in the groups of the animals without correction, especially after 7 days of reperfusion - by 29.41 % ($p < 0.005$) and by 15.71 % ($p < 0.05$) in accordance. The content of the diene, triene conjugates and TBC-LP muscle homogenate was statistically significantly lower in the groups with the introduction of the carbacetam than in the groups of the animals without correction. The largest difference between the groups was found after 1 day with a difference of 9.16 % ($p < 0.05$), 7.35 % ($p < 0.005$) and 16.05 % ($p < 0.05$), respectively. Antioxidant activity of SOD and catalase after 1 day was higher by 27.41 % ($p < 0.005$) and by 25.13 % ($p < 0.005$), compared with the group of the animals without introduction of the carbacetam. Thus, simulated ischemia-reperfusion is accompanied by the greatest biochemical disorders in the serum - after 1 day, and in the muscle homogenate - after 2 hours of the reperfusion. After 14 days of the experiment, most indicators still do not return to the level of the control group. The application of the correction helps to reduce the severity of biochemical disorders at the systemic and local levels, especially during periods of their greatest deviations.

Keywords: biochemical changes, blood serum, ischemia-reperfusion, lipid peroxidation, carbacetam.