

Omnium artium medicina nobilissima est

# УКРАЇНСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ АЛЬМАНАХ

## Том 6, № 6, 2003

**Адреса редакції:**

91045, м. Луганськ, 50 років  
Оборони Луганська, 1

**Телефон/факс:**

(0642) 53-20-36 [rector@lsmu.lg.ua](mailto:rector@lsmu.lg.ua)

**Телефон:**

(0642) 63-02-55

**Літературні редактори і**

**коректори :**

М.В.Кайдалова  
О.В.Шепель

**Художній редактор і**

**комп'ютерний дизайн,**

**оригінал-макет:**

Тишкевич О.А.

**Засновники:**

Міністерство охорони здоров'я  
України.

Луганський державний медичний  
університет

Журнал зареєстрований в  
Міністерстві інформації  
України Свідоцтво про  
реєстрацію КВ № 3006  
Журнал зареєстрований ВАК  
України: "Бюлетень ВАК  
України" №3, 1998 р.

Рекомендовано до друку Вченою  
радою Луганського державного  
медичного університету (протокол  
№11 від 06.11.2003 р.)

Підписано до друку 10.11.2003 р  
Формат 60x84,8. Папір писчий.

Тираж 350 прим. Видавництво  
ЛДМУ м. Луганськ

**ЗАСНОВАНИЙ У  
1998 РОЦІ**

**Головний редактор:**  
**Ю.М.Вовк (Луганськ)**

**Редакційна колегія:**

А.А.Бабанін (Сімферопіль), І.Р.Бариліак (Київ), Ю.М.Вороненко (Київ), Л.Я.Ковальчук (Тернопіль), М.П.Ковальський (Київ), В.Г.Ковешніков (Луганськ), В.А.Коржан (Луганськ) - відповідальний секретар, В.І.Лузін (Луганськ) - заступник головного редактора, В.М.Мороз (Вінниця), М.С.Скрипніков (Полтава), Т.А.Фоміних (Симферопіль), В.М.Фролов (Луганськ)

**Редакційна рада:**

М.Л.Аряєв (Одеса), Г.Д.Бабенков (Луганськ), В.Т.Германов (Луганськ), В.К.Івченко (Луганськ), С.Є.Казакова (Луганськ), Ю.М.Колчін (Луганськ), І.О.Комаревцева (Луганськ), А.Д.Лук'янчук (Луганськ), М.П.Павловський (Львів), В.П.Пішак (Чернівці), В.Г.Путінцев (Луганськ), О.С.Решетнікова (Луганськ), Л.Д.Савенко (Луганськ), В.В.Сіпрок (Луганськ), З.М.Трет'якевич (Луганськ)

1994



1956

Журнал є фаховим виданням для публікації основних результатів дисертаційних робіт у галузі медичних наук (Постанова Президії ВАК України від 9 червня 1999 р. №1-05/7)

УДК611-013.85-001.19  
© Шепитько В.И., 2003

## СОСТОЯНИЕ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ В ПЛАЦЕНТЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАЗНЫХ РЕЖИМОВ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО ХРАНЕНИЯ

Шепитько В.И.

*Украинская медицинская стоматологическая академия (Полтава), Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (Харьков)*

**Введение.** В каждой ткани и органе с различной интенсивностью проходят процессы неферментативного свободнорадикального перекисного окисления (СРПО) биополимеров, инициируемого активными формами кислорода, и лимитируемого антиоксидантной защитой [1, 2, 4, 6]. Активные формы кислорода неферментативно окисляют липиды, ДНК, белки [7, 11].

СРПО биополимеров сопровождается хемилюминесценцией и образованием первичных и промежуточных продуктов: гидроперекиси биополимеров, диеновые (ДК), триеновые (ТК), тетраеновые (ТТК) и оксидиеновые (ОДК) конъюгаты; из которых образуются вторичные продукты оксосоединения, из последних половину составляет малоновый диальдегид (МДА). МДА конъюгирует с аминогруппами биополимеров, образуя шиффовы основания (ШО), на которых откладывается конечный продукт липофусцин (пигмент старения) [4,9,10].

Усиление пероксидации и ослабление антиоксидантной защиты характерно для стресса, воспаления, лучевой болезни, травм, гипоксии, интоксикаций, сахарного диабета, инфаркта миокарда, гепатитов и др. [3]. В настоящее время криоконсервированная плацента используется как трансплантат для лечения выше перечисленных заболеваний. В плаценте имеется сильная антиоксидантная защита, но тем не менее сохранение тканей плаценты при низких и ультранизких температурах требует оценки состояния СРПО в ней. В доступной нам литературе данных о состоянии СРПО в плаценте в зависимости от режима низкотемпературного хранения не обнаружено. Однако это важно для понимания сохранности биологически активных веществ в плаценте при криоконсервации.

**Целью работы** было исследование состояния липопероксидации в плаценте в зависимости от разных режимов низкотемпературного хранения.

Материал и методы исследования. Дня исследования использовалась плацента, взятая от женщин после кесаревого сечения. Проведено пять серий исследований, в каждой из которых использовано по 10 проб плаценты. В первой серии - исследования производились непосредственно после взятия плаценты (контроль), во второй - образцы этих же плацент сохранялись одни сутки при +4°C, в третьей серии - образцы плаценты сохранялись одни сутки при -20°C, в четвертой - образцы плаценты сохранялись они сутки при -20°C, а затем один год при -196°C, в пятой серии - образцы сохранялись одни сутки при -196°C и один год при -20°C. В практике криоконсервирования используется вариант программного 2-х этапного замораживания с последующим погружением в жидкий азот при температуре минус 196°C.

Первичные и промежуточные продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли в гептаново-изопропоноловом (1:1 по объему)

экстракте (0,5 мл гомогената плаценты с 3,0 мл экстрагируемой смеси - 1 час, затем добавлялось 0,5 мл дистиллированной воды, после расслоения отбирали 1 мл верхней фазы и смешивали с 2 мл этанола). Спектрофотометрировали против этанола, измеряя экстинцию двойных связей при 220 нм, ДК - 233 нм, ТК - 258 нм, ТТК - 278 нм, ОДК - 287 нм, ШО - при 400 нм. Результат выражали в оптической плотности на мг белка в пробе [1, 5, 8, 12].

МДА и другие соединения реагируют в кислой среде с 2-тиобарбитуровой кислотой, образуя триметиновый комплекс с максимумом поглощения при 532 нм. В работе использованы реактивы фирмы «Алькор-био» (С.-Пб., Россия), измерения проводили на СФ-46 [9].

Статистическую обработку результатов проводили согласно критерия Стьюдента, используя пакет компьютерных программ.

Проведенное исследование является фрагментом НИР «Разработка новых криобиологических технологий использования криоконсервированных эмбриональных клеток, тканей человека и животных в медицине», № 0199U000323.

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты исследования представлены в таблице. Экстинкции максимума поглощения двойных связей липидного экстракта достоверно не изменилась в 1, 2 и 3 сериях. Наименьшие ее достоверные значения оказались в 4 и 5 сериях при  $P < 0,05$ . Содержание диеновых конъюгатов достоверно повысилось во 2 и 5 сериях опытов, соответственно в 1,9 и 2,2 раз ( $P < 0,001$ ). В этих же сериях опытов достоверно увеличилось содержание триеновых конъюгатов, соответственно в 1,8 и 1,9 раз по сравнению с контролем при низкотемпературном хранении ( $P < 0,001$ ). Достоверно увеличилось содержание во 2 и 5 сериях опытов тетраеновых конъюгатов, соответственно в 1,4 (при  $P < 0,05$ ) и 1,7 (при  $P < 0,01$ ) раз. В 3 и 4 сериях повышение диеновых конъюгатов имеет лишь характер тенденции ( $P < 0,1$ ), повышение триеновых выражено при  $P < 0,01$ . Повышение тетраеновых конъюгатов в 3 и 4 сериях опытов носит характер тенденции. Оксидиеновые конъюгаты в 3 серии повышаются при  $P < 0,05$ , а в 4 - это повышение носит характер тенденции ( $P < 0,1$ ). В то же время во 2 и 5 сериях опытов достоверно возросла концентрация оксидиеновых конъюгатов при  $P < 0,01$  и  $P < 0,001$  соответственно. По сравнению с контролем концентрация малонового диальдегида увеличилась в 1,7 раза в пробах плаценты в условиях 2 серии опытов ( $P < 0,001$ ). В 3 и 4 сериях это увеличение выражено только при 5% уровне доверительной вероятности. Содержание Шиффовых оснований в тканях плаценты достоверно повысилось в сериях опытов 2 и 5, соответственно в 1,6 и 2,2 раза при  $P < 0,001$ , а в 3 и 4 сериях это увеличение существенно лишь при  $P < 0,005$  и  $P < 0,01$  соответственно.

Таким образом, наибольшее достоверное

усиление SRPO в тканях плаценты происходило при хранении ее 1 сутки при +4°C (2 серия) и 1 сутки при -196°C, а затем 1 год при -20°C (5 серия). По-видимому, при +4°C биохимические процессы ослабляются, замедляется диффузия субстратов к ферментам, что создает условия для альтернативного не ферментативного процесса SRPO. В условиях быстрого замораживания до -196°C в течение 1 суток с последующим хранением образцов 1 год при -20°C не исключена деструкция кристаллами льда мембран клеток в условиях ультранизких температур и затем наступила реализация повреждений клеточных структур во время длительного хранения при -20°C. В этих условиях увеличивается их контакт со связанным, растворенным в биосредах и окружающем ткань кислородом. При этом возможен контакт O<sub>2</sub> с ионами железа ферментов и Образованные продукты ПОЛ могут быть стрессинами, факторами лучевой патологии, то есть быть токсикантами организма и деструкти- рующим фактором в отношении биологически

активных веществ трансплантируемой плаценты.

Температурные условия 4 серии (1 сутки -20°C, а потом 1 год -196°C), создают условия почти полного прекращения всех биохимических окислительных процессов в том числе ПОЛ. Следует отметить, что эти условия хранения являются самыми благоприятными. Некоторое увеличение продуктов SRPO в этих сериях опытов могут вызывать деструкцию белков, давая слабые антигены, стимулирующие иммунную систему реципиента.

**Вывод.** Таким образом, хранение плаценты при температуре -20°C, а затем с переносом в жидкий азот (-196°C) приводит к минимальным биохимическим нарушениям в ткани на уровне липопероксидации, развития ПОЛ, сохранению в значительной мере биологически активных веществ и белка.

**Перспективы:** клиническая апробация результатов исследования и оценка состояния ПОЛ, липопероксидации и биологически активных веществ и белка при низкотемпературном хранении.

1. Аношина М.Ю., Суховий М.В., Ющенко П.В., Яговдик М.В. Свободнорадикальное окисление липидов и стойкость к гемолизу эритроцитов у больных гемофилией в патогенезе развития осложненной болезни // Лаб. диагностика. - 2000. - №1.-С.12-15.
2. Белоус А.М., Бондаренко В.А. Структурные изменения биологических мембран при охлаждении / К.: Наук, думка, 1982.-256 с.
3. Бобирьова Л.Є. Експериментальне та клінічне обґрунтування застосування препаратів антиоксидантів у комплексній терапії діабетичних ангіопатій // Автореф. дис. ...д.м.н. - Київ, 1997.- 43 с.
4. Владимиров Ю.А., Арчаков А.О. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах // М.: Наука, 1972.- 252 с.
5. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропианолевых экстрактах крови // Вопр. мед. химии. - 1989. - Т. 35, индукция образования активных форм кислорода.

№ 1. - С. 127-130.

Гулевский А.К., Бондаренко В.А., Белоус А.М. Барьерные свойства биомембран при " низких температурах // К.: Наук, думка, 1988. - 206 с.

6. Красновский А.А. мл. Синглетный кислород в фотобиологических процессах // Автореф. дис. д-ра биол. наук. М., 1983. - 36 с.

7. Лабораторные методы исследования в клинике // Справочник. Под ред. В.В. Меньшикова / М.: Медицина, 1987. - 366 с.

8. Медицинская лабораторная диагностика. // Под ред. Карпищенко А.И / С.-Петербург.: Интермедика, 1997.-304 с.

9. Цебржинский О.И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза, иммуногенеза / Полтава, 1992.-С. 120-155.

10. Цебржинский О.И. Модифікація основ ДНК печінки при різних джерелах активних форм кисню в печінці при експериментальних інтоксикаціях // Медична хімія, 2000. - Т. 2, № 3. - С. 33-36.

**Шепітько В.І.** Стан ліпопероксидації у плаценті в залежності від різних режимів низькотемпературного зберігання // Український медичний альманах. -2003. -Том 6, №6. - С.180-181.

Проведене дослідження свідчить, що температурні умови - 4 серії (1 день -20°C, а потім 1 рік -196°C), створюють умови повного закінчення усіх біохімічних окисних процесів у тому числі повного окислення ліпідів. Треба підкреслити, що ці умови зберігання найбільш сприятливі. Деяке збільшення продуктів SRPO у цих серіях дослідів може визвати деструкцію білків і давати слабкі антигени, які стимулюють імунну систему реципієнта.

**Ключові слова:** плацента, низьке температурне зберігання, повне окислення ліпідів, ліпопероксидації

**Shepitko V.I.** State of lipoperoxidatsii in placenta depending on different modes of low temperature storage // Український медичний альманах. -2003. - Том 6, №6. - С.180-181.

The conducted research showed that temperature terms are 4 series (1 days -20°C, and then 1 year -196°C), create terms almost complete freezing of all biochemical oxidizing processes including POL. It should be noted that these terms of storage are most favourable. They can cause some increase of the SRPO products in these series of experiments destruction of albumens, giving weak antigens stimulant the immune system of recipient, here saving, much more, biologically active matters

**Keywords:** placenta, low temperature storage, pereoxidization of lipids, lipoperoksidatsiya

Надійшла 11.10.2003 р.