

УДК: 577.164.2

**Вміст метаболітів вітаміну С в органах щурів в умовах гострої крововтрати****О.К.Будняк, С.С.Чернадчук, А.В.Сорокін, К.Ю.Ожерельєва, С.А.Петров***Одеський національний університет імені І.І.Мечникова (Одеса, Україна)*  
*budnyak2005@ukr.net*

Метою даного дослідження було вивчити дію гострої крововтрати, яку моделювали шляхом одноразової втрати 30% циркулюючої крові, на коливання вмісту аскорбінової (АК), дегідроаскорбінової (ДАК), дикетогулонової (ДКГК) кислоти та їх суми в органах щурів у динаміці на п'яту, дванадцяту, дев'ятнадцяту та двадцять шосту добу після крововтрати. Гостра крововтрата викликала суттєве зменшення вмісту всіх показників системи метаболітів аскорбінової кислоти – їх суми, АК, ДАК та ДКГК – на 10–73 % у порівнянні з контролем. Найбільш істотно зменшувався вміст саме аскорбінової кислоти, який не відновлювався у всіх органах до кінця дослідного періоду. Вміст ДАК у всіх органах збільшувався, починаючи з 12-ї доби, а потім зменшувався протягом дослідження. Вміст ДКГК – збільшувався, починаючи з 19-ої доби дослідження. При цьому було визначено, що на 26-ту добу дослідів у нирках вміст ДАК перебільшував контрольний показник на 42%, а вміст ДКГК у печінці та крові – на 25–60 %. Вміст суми метаболітів аскорбінової кислоти під кінець дослідження майже відновлювався, проте це відновлення відбувалося різним чином: у нирках – за рахунок збільшення вмісту ДАК, в інших органах – за рахунок підвищення концентрації ДКГК. Частка аскорбінової кислоти від суми кислот (у %) після крововтрати суттєво зменшувалась, починаючи з 5-ої доби, а процес її відновлення починав відбуватися тільки після 19-ої доби. Співвідношення суми вітамінної складової кислот системи аскорбінової кислоти до вмісту невітамінної дикетогулонової кислоти підвищувалось у нирках на 12-ту та 26-ту добу дослідів, в інших органах цей показник зменшувався у 2,3–3,1 разів у порівнянні з контролем. Отримані дані можна пояснити підвищеною витратою аскорбінової кислоти на нейтралізацію наслідків окисних процесів під час оксидативного стресу, який відбувався за дії гострої крововтрати, та завдяки її оборотному перетворенню на дегідроаскорбінову, а останньої, необоротно, – на дикетогулонову кислоту.

**Ключові слова:** *аскорбінова кислота, дегідроаскорбінова кислота, дикетогулонова кислота, гостра крововтрата.*

**Content of vitamine C metabolites in rats organs at acute blood loss****O.K.Budnyak, S.S.Chernadchuk, A.V.Sorokin, K.Yu.Ozherelieva, S.A.Petrov**

There has been studied the effect of acute blood loss, which was modeled by a single loss of 30% of the circulating blood, on the fluctuations in the content of ascorbic (AA), dehydroascorbic (DAA), diketogulonic (DKGA) acid and their sum in the organs of rats in dynamics for the fifth, twelfth, nineteenth and twenty-sixth days after the blood loss. Acute blood loss caused a significant decrease in the content of all parameters of the system of metabolites of ascorbic acid – their sum, AA, DAA and DKGA – by 10–73 % compared to the control. The most significant decrease was in the content of AA, which was not restored in all organs until the end of the study period. The DAA content in all organs increased from the 12th day, and then decreased during the experiment. The content of the DKGA increased from the 19th day of the experiment. At the same time, it was found that on 26th day in the kidneys, the DAA content exceeded the control value by 42%, and the content of DKGA in the liver and blood – by 25–60 %. The content of the amount of ascorbic acid metabolites at the end of the experiment was almost restored, but this recovery occurred in various ways: in the kidneys – due to an increase in the DAA content, in other organs – by increasing the concentration of DKGA. The parts of AA from the sum of acids (in %) after blood loss significantly decreased, starting from the 5th day, and the process of its recovery began to occur only after the 19th day. The ratio of the amount of the vitamin component of the acids of the ascorbic acid system to the content of the non-vitamin DKGA was increased in the kidneys on the 12th and 26th days of the experiment, in other organs this index decreased 2.3–3.1 times in comparison with the control. The obtained data can be explained by the increased consumption of ascorbic acid to neutralize the effects of the intensification of oxidative processes under oxidative stress, which were activated by the action of acute blood loss, due to its reversible conversion to dehydroascorbic acid, and the latter irreversibly to diketogulonic acid.

**Key words:** *ascorbic acid, dehydroascorbic acid, diketogulonic acid, acute blood loss.*

## Содержание метаболитов витамина С в органах крыс в условиях острой кровопотери

А.К.Будняк, С.С.Чернадчук, А.В.Сорокин, К.Ю.Ожерельева, С.А.Петров

Целью исследования было изучить действие острой кровопотери, которую моделировали путем однократной потери 30% циркулирующей крови, на колебания содержания аскорбиновой (АК), дегидроаскорбиновой (ДАК), дикетогулоновой (ДКГК) кислоты и их суммы в органах крыс в динамике на 5-е, 12-е, 19-е и 26-е сутки после кровопотери. Острая кровопотеря вызывала существенное уменьшение содержания всех показателей системы метаболитов аскорбиновой кислоты – их суммы, АК, ДАК и ДКГК – на 10–73 % по сравнению с контролем. Наиболее существенно уменьшалось содержание именно АК, которое не восстанавливалось во всех органах до конца исследуемого периода. Содержание ДАК во всех органах увеличивалось, начиная с 12-х суток, а затем уменьшалось в течение опыта. Содержание ДКГК – увеличивалось, начиная с 19-х суток опыта. При этом было выявлено, что на 26-е сутки исследований в почках содержание ДАК превышало контрольный показатель на 42%, а содержание ДКГК в печени и крови – на 25–60 %. Содержание суммы метаболитов аскорбиновой кислоты в конце опыта почти восстанавливалось, однако это восстановление происходило различным путем: в почках – за счет увеличения содержания ДАК, в других органах – за счет повышения концентрации ДКГК. Доля АК от суммы кислот (в %) после кровопотери существенно уменьшалась, начиная с 5-х суток, а процесс ее восстановления начинал происходить только после 19-х суток. Соотношение суммы витаминной составляющей кислот системы аскорбиновой кислоты к содержанию невитаминной ДКГК повышалось в почках на 12-е и 26-е сутки опыта, в других органах этот показатель уменьшался в 2,3–3,1 раза по сравнению с контролем. Полученные данные можно объяснить повышенным расходом аскорбиновой кислоты на нейтрализацию последствий усиления окислительных процессов при оксидативном стрессе, которые активировались вследствие действия острой кровопотери, благодаря ее обратимому превращению в дегидроаскорбиновую, а последней, необратимо – в дикетогулоновую кислоту.

**Ключевые слова:** аскорбиновая кислота, дегидроаскорбиновая кислота, дикетогулоновая кислота, острая кровопотеря.

### Вступ

Гостра крововтрата призводить до порушення всіх видів обміну речовин в організмі. Відбувається зниження швидкості тканинного дихання, накопичення недоокиснених метаболітів і збільшення редокс-систем клітини (Чернадчук та ін., 2015). Цей патохімічний комплекс разом із недостатністю макроергів і порушенням механізмів активного транспорту викликає в клітинах незворотні зміни, які найбільш швидко розвиваються в тканинах мозку, печінки, нирок, серця (Смирнов, 1987). Зміна рівноваги окисно-відновних процесів порушує стан компонентів антиокислювальної системи організму, одною з яких є система аскорбінової кислоти (Кудряшов и др., 2005), яка складається із саме аскорбінової кислоти, дегідроаскорбінової та дикетогулонової кислоти. Перші дві сполуки є формами вітаміну С, третя – це вже невітамінна сполука, яка є продуктом необоротного перетворення дегідроаскорбінової кислоти. Їх вміст та співвідношення є одним із важливих показників, які характеризують не тільки окисно-відновний стан клітин, але і метаболічний стан взагалі, тому що щурі власно спроможні синтезувати аскорбінову кислоту, яку вони використовують не тільки як вітамін, але і як метаболіт. При цьому динаміка зміни вмісту та співвідношення цих перелічених метаболітів вітаміну С у щурів з даним патологічним впливом вивчена недостатньо. Таким чином, метою роботи було визначення дії фактору гострої крововтрати на вміст і співвідношення дегідроаскорбінової, дикетогулонової та аскорбінової кислот в органах щурів в динаміці на 5-ту, 12-ту, 19-ту та 26-ту добу після крововтрати.

### Об'єкти та методи дослідження

Білих безпородних щурів масою 320–400 г розділили на п'ять груп. Група №1 – контроль. У інших щурів моделювали гостру крововтрату шляхом одноразової втрати 30% циркулюючої крові (Каркищенко, 2010). Визначення вмісту метаболітів аскорбінової кислоти проводили на 5-ту (група №2), 12-ту (група №3), 19-ту (група №4) та 26-ту добу (група №5) після крововтрати. Утримання тварин і проведення експериментів проводили у відповідності з міжнародними правилами «Directive 2010/63/EU ...» (2010). Вміст метаболітів аскорбінової кислоти визначали у гомогенатах печінки, нирок та крові за методом (Соколовский и др., 1974). Обрахування розходжень між декількома групами робили за С.Гланцем, використовуючи метод Ньюмена-Кейсла за допомогою

комп'ютерної програми «БІОСТАТ» (Гланц, 1998).

### Результати та обговорення

Характер дії гострої крововтрати на вміст метаболітів аскорбінової кислоти проілюстровано на рис. 1–3. Згідно з отриманими даними, на 5-ту добу після крововтрати – це термін, коли починає розвиватися залізодефіцитна анемія, у печінці відбувалося зменшення вмісту сумарної концентрації кислот – АК, ДАК, ДКГК до 52% від рівня контрольних тварин (рис. 1). Вміст АК зменшився на 59%, вміст ДАК – на 30%, ДКГК – на 60%. Протягом наступної доби показники почали зростати. Так, вміст суми метаболітів аскорбінової кислоти складав вже 75% контрольного рівня, ДКГК – 50%, проте вміст саме АК ще більше зменшився і складав тільки 18% від початкового рівня, а вміст ДАК, навпаки, суттєво підвищився і перевищив контрольний рівень на 50%. На 19-ту добу істотно підвищувався вміст ДКГК, який у 1,1 разів перевищував контрольне значення, на 26-ту добу відбувалось відновлення показника суми метаболітів аскорбінової кислоти, проте її складові – ДАК і особливо АК відновилися лише частково. Що стосується ДКГК, то її вміст був підвищений у порівнянні з контролем у 1,8 разів. Таким чином відновлення показника суми метаболітів аскорбінової кислоти відбувалось за рахунок ДАК та, особливо, ДКГК.

Динаміка змін концентрації метаболітів аскорбінової кислоти у нирках (рис. 2) була подібною протягом досліду у порівнянні з показниками печінки, проте зміни мали менший діапазон.

Так, на 5-ту добу досліду відбувалось аналогічне зменшення всіх показників, що досліджувались, на 33–41 % у порівнянні з контрольними даними. Проте вміст ДКГК підвищився на 33%. Протягом наступних трьох тижнів відбувалось істотне підвищення вмісту ДАК на 54% від рівня контролю і поступове незначне його зменшення до показника 142% від контрольного значення на 26-ту добу досліджень. Вміст аскорбінової кислоти протягом періоду 12–19 діб складав 43–45 % контрольного рівня, під кінець досліду її вміст відновлювався до рівня 77% від контролю. Вміст ДКГК суттєво коливався і на 26-ту добу складав лише 67% від рівня контролю. Таким чином, відновлення показників на 26-ту добу досліду також не відбувалось.

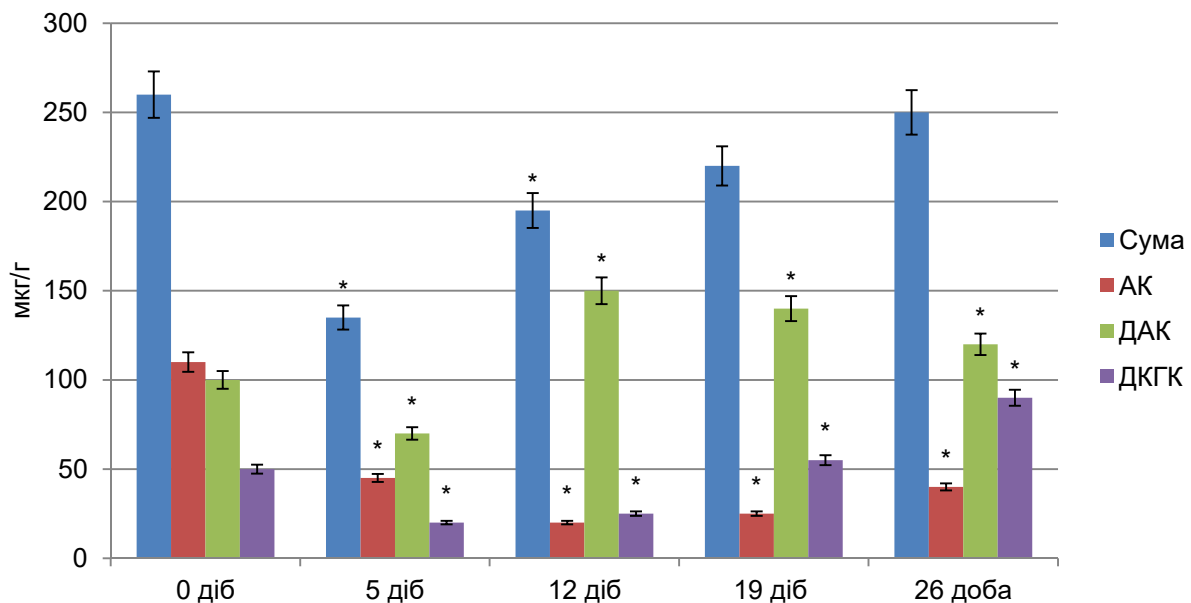


Рис. 1. Вміст аскорбінової (АК), дегідроаскорбінової (ДАК), дикетоглуконової кислоти (ДКГК) та їх суми (Сума) в печінці щурів при дії гострої крововтрати протягом 26 діб у динаміці, (мкг/г) (n=5)

Примітка. Тут і далі: \*  $p \leq 0,05$  по відношенню до показників у контролі.

Що стосується показників у крові (рис. 3), то їх вміст на 5-ту добу зменшувався таким чином: вміст суми метаболітів аскорбінової кислоти – на 42%, вміст ДКГК – на 20%, а вміст АК – більш

суттєво – майже у чотири рази у порівнянні з контролем. Вміст ДАК зменшувався на 12%.

У подальші терміни дослідження відбувалось поступове часткове відновлення суми аскорбінових кислот до 88% від рівня контролю на 26-ту добу, вміст АК при цьому відновлювався тільки на 2/3, вміст ДАК складав 125% від рівня контролю на 12-ту добу досліджу, проте її рівень також поступово зменшувався і під кінець наших дослідів складав 75% від контрольного рівню. Вміст ДКГК на 19–26-ту добу підвищувався і наприкінці перевищував контрольний рівень на 60%. З даних літератури відомо, що у крові повне відновлення показників системи аскорбінової кислоти після гострої крововтрати відбувається лише на 30-ту добу (Кудряшов и др., 2005).

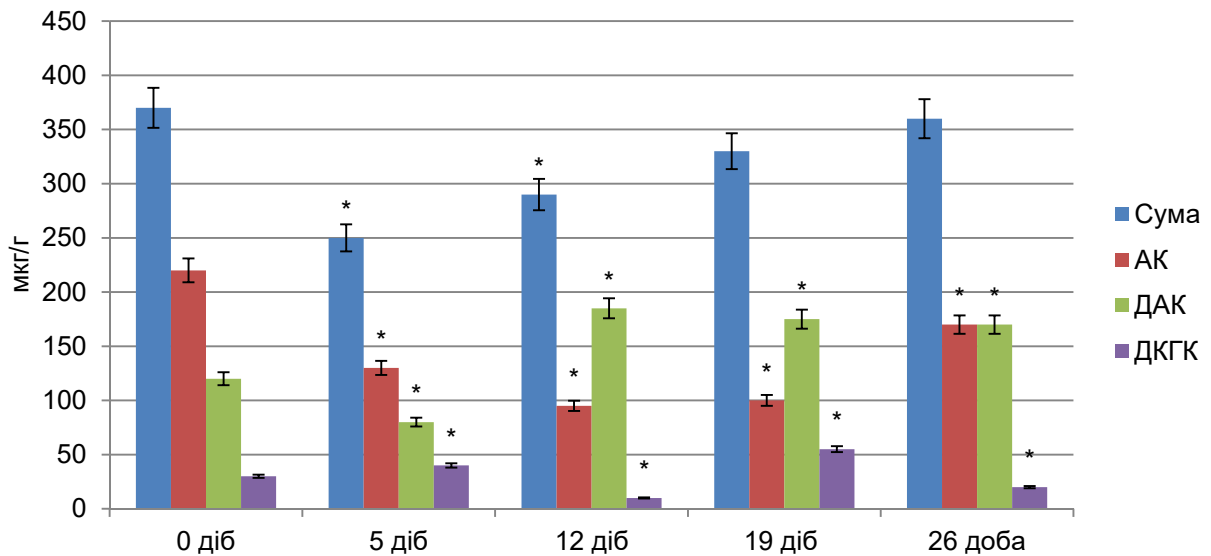


Рис. 2. Вміст аскорбінової (АК), дегідроаскорбінової (ДАК), дикетоглуконової кислоти (ДКГК) та їх суми (Сума) в нирках щурів при дії гострої крововтрати протягом 26 діб у динаміці, (мкг/г) (n=5)

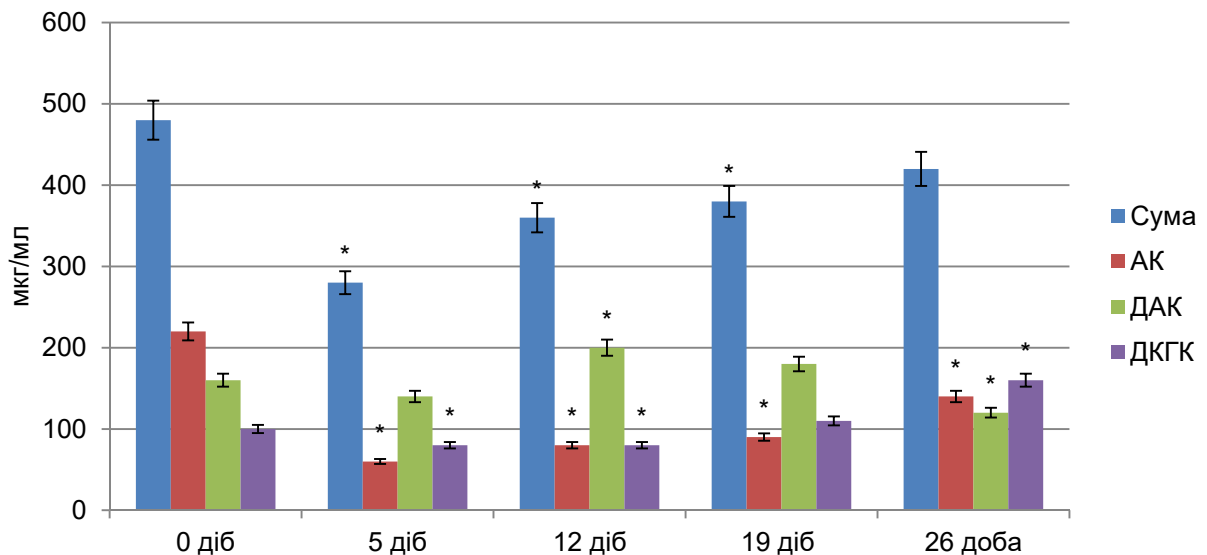
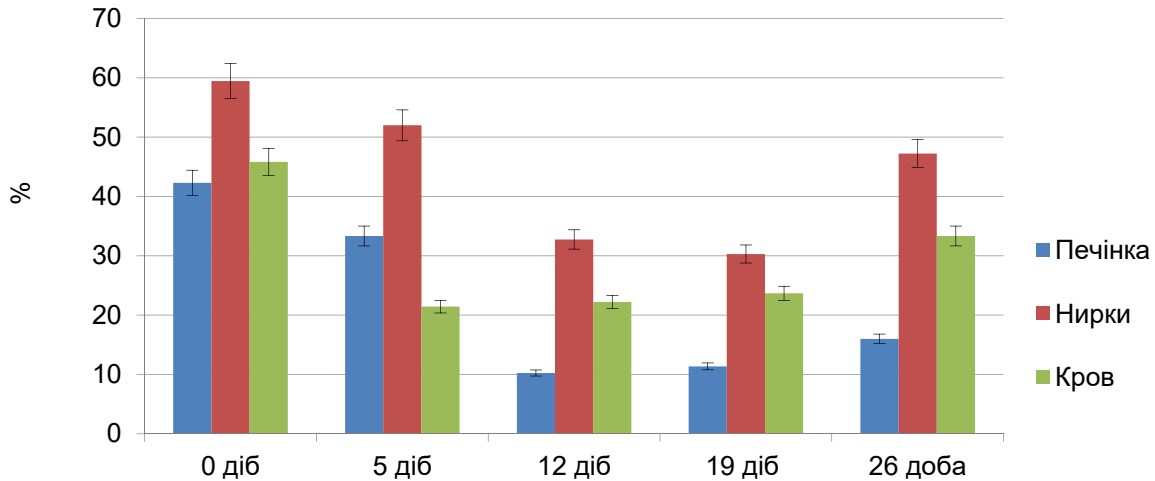


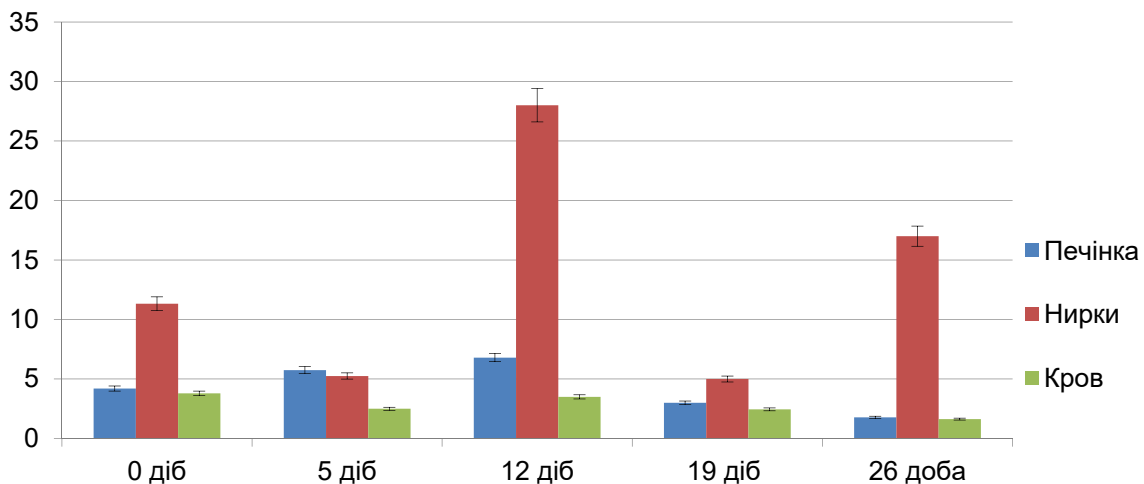
Рис. 3. Вміст аскорбінової (АК), дегідроаскорбінової (ДАК), дикетоглуконової кислоти (ДКГК) та їх суми (Сума) в крові щурів при дії гострої крововтрати протягом 26 діб у динаміці, (мкг/мл) (n=5)

Більш наочно коливання рівня метаболітів аскорбінової кислоти показано на наступних рисунках. Так, на рис. 4 відображено коливання частки АК від суми метаболітів (у %). Показано, що після крововтрати частка АК у % суттєво зменшується починаючи з 5 доби, а процес її відновлення починає відбуватися тільки після 19 доби.



**Рис. 4. Частка аскорбінової кислоти від суми метаболітів аскорбінової кислоти в органах щурів під дією гострої крововтрати (%)**

На рис. 5 відображено коливання співвідношень (АК+ДАК)/ДКГК, тобто суми вітамінної частки кислот системи аскорбінової кислоти до вмісту невітамінної ДКГК.



**Рис. 5. Співвідношення (АК+ДАК)/ДКГК у органах щурів під дією гострої крововтрати**

Суттєві коливання показника – у бік його підвищення – відбувалися у нирках на 12-ту та 26-ту добу дослідів, проте в інших органах вітамінна частка поступово зменшувалась у 2,3–3,1 разів у порівнянні з контрольним співвідношенням. Такі зміни є наслідком підвищення вмісту ДКГК у печінці та крові під кінець дослідів, у нирках більш суттєво на цей показник впливав підвищений вміст ДАК.

Отримані дані можна пояснити розвитком оксидативного стресу (Petrov et al., 2017), який підвищує витрати саме аскорбінової кислоти на нейтралізацію наслідків окисних процесів, завдяки чому і підвищується рівень дегідроаскорбінової кислоти, та завдяки її незворотному руйнуванню, і дикетогулонової кислоти. Можна припустити, що надмірне накопичення ДКГК є відповіддю клітин на надмірне накопичення ДАК. Коли її підвищення стає вище порогового рівня, відбувається її компенсаторне, проте необоротне перетворення на дикетогулонову кислоту. Можна також констатувати, що на 26-ту добу досліджень вміст і співвідношення метаболітів вітаміну С не відновився до контрольних показників, що свідчить про те, що метаболічний стан органів цих щурів не повернувся до норми.

#### Висновки

1. Гостра крововтрата викликала суттєве зменшення вмісту всіх показників системи метаболітів аскорбінової кислоти – їх суми, АК, ДАК та ДКГК – на 10–73 % у порівнянні з контролем.
2. Найбільш істотно зменшувався вміст саме АК, який не відновлювався до кінця дослідного періоду.
3. Вміст ДАК починав суттєво збільшуватися з 12-ої доби досліду і на 42% перебільшував контроль у нирках при кінці досліду.
4. Вміст ДКГК суттєво підвищувався протягом досліду, починаючи з 19 доби досліду, до показників, що перевищують рівень контролю на 25–60 %, особливо в печінці та крові.
5. Вміст суми метаболітів аскорбінової кислоти під кінець досліду майже відновлювався, проте це відновлення відбувалося різним чином: у нирках – за рахунок збільшення вмісту ДАК, в інших органах – за рахунок підвищення концентрації ДКГК.

#### Список літератури / References

- Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М. : Практика, 1998. – 459с. /Glants S. Biomedical statistics. – Moscow: Praktika, 1998. – 459p./
- Каркищенко Н.Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям биомедицинских технологий. – М., 2010. – 344с. /Karkischenko N.N. Guide to laboratory animals and alternative models of biomedical technologies. – Moscow, 2010. – 344p./
- Кудряшов А.М., Титова Н.М., Савченко А.А., Кудряшова Е.В. Содержание аскорбиновой кислоты и ее окисленных форм при старении эритроцитов, продуцированных в условиях нормального и напряженного эритропоэза // Биомедицинская химия. – 2005. – Т.51, вып. 1. – С. 53–59. /Kudryashov A.M., Titova N.M., Savchenko A.A., Kudryashova Ye.V. The content of ascorbic acid and its oxidized forms at the aging of red blood cells produced in conditions of normal and intense erythropoiesis // Biomeditsinskaya khimiya. – 2005. – Vol. 51(1). – P. 53–59./
- Смирнов В.В. Состояние активности окислительных ферментов при острой смертельной кровопотере // Матер. II-го Всеросс. съезда судебных медиков: тезисы докладов. – Иркутск-М., 1987. – С. 274–276. /Smirnov V.V. The state of activity of oxidative enzymes in acute fatal blood loss // Mater. II-st All-Russian congress of forensic doctors: abstracts of reports. – Irkutsk-M., 1987. – P. 274–276./
- Соколовский В.В., Лебедева Л.В., Лиэлуп Т.В. О методе отдельного определения аскорбиновой, дегидроаскорбиновой и дикетогулоновой кислот в биологических тканях // Лабораторное дело. – 1974. – №3. – С. 160–162. /Sokolovsky V.V., Lebedeva L.V., Lielup T.V. A method of separate determining of ascorbic, dehydroascorbic and diketogulonic acids in biological tissues // Laboratornoe delo. – 1974. – No. 3. – P. 160–162./
- Чернадчук С.С., Петров С.А., Будняк О.К., Рустамова А.О. Стан процесів вільнорадикального перекісного окиснення у щурів з гострою крововтратою // Scientific Journal «ScienceRise». – 2015. – No. 4/1(9). – С. 16–20. /Chernadchuk S.S., Petrov S.A., Budnyak O.K., Rustamova A.O. State of free-radical peroxidation processes in rats with acute blood loss // ScienceRise. – 2015. – No. 4/1(9). – P. 16–20./
- Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Union L276/33. – 86/609/EC.20.10.2010.
- Petrov S., Budnyak O., Ozherelyeva K. et al. Ascorbic acid metabolism in the organism under the lack of oxygen supply to the tissues // Journal of Education, Health and Sport. – 2017. – No. 7(6). – S. 583–590.

Представлено: Б.М.Галкін / Presented by: B.M.Galkin

Рецензент: Н.І.Буланкіна / Reviewer: N.I.Bulankina

Подано до редакції / Received: 15.03.2018

**About the authors:** O.K.Budnyak – Odessa I.I.Mechnikov National University, Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, Ukraine, 65082, budnyak2005@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8256-4664>  
S.S.Chernadchuk – Odessa I.I.Mechnikov National University, Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, Ukraine, 65082, snezhana.chuk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8008-5099>  
A.V.Sorokin – Odessa I.I.Mechnikov National University, Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, Ukraine, 65082, sorokin\_a\_v@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-9151-6488>  
K.Yu.Ozherelieva – Odessa I.I.Mechnikov National University, Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, Ukraine, 65082, nekl3@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8810-6373>  
S.A.Petrov – Odessa I.I.Mechnikov National University, Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, Ukraine, 65082, serpet2015@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-9390-4006>

**Про авторів:** О.К.Будняк – Одеський національний університет імені І.І.Мечникова, вул. Дворянська, 2, Одеса, Україна, 65082, budnyak2005@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8256-4664>  
С.С.Чернадчук – Одеський національний університет імені І.І.Мечникова, вул. Дворянська, 2, Одеса, Україна, 65082, snezhana.chuk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8008-5099>  
А.В.Сорокін – Одеський національний університет імені І.І.Мечникова, вул. Дворянська, 2, Одеса, Україна, 65082, sorokin\_a\_v@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-9151-6488>  
К.Ю.Ожерельєва – Одеський національний університет імені І.І.Мечникова, вул. Дворянська, 2, Одеса, Україна, 65082, nekl3@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8810-6373>  
С.А.Петров – Одеський національний університет імені І.І.Мечникова, вул. Дворянська, 2, Одеса, Україна, 65082, serpet2015@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-9390-4006>

**Об авторах:** А.К.Будняк – Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова, ул. Дворянская, 2, Одесса, Украина, 65082, budnyak2005@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-8256-4664>  
С.С.Чернадчук – Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова, ул. Дворянская, 2, Одесса, Украина, 65082, snezhana.chuk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8008-5099>  
А.В.Сорокин – Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова, ул. Дворянская, 2, Одесса, Украина, 65082, sorokin\_a\_v@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-9151-6488>  
К.Ю.Ожерельева – Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова, ул. Дворянская, 2, Одесса, Украина, 65082, nekl3@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8810-6373>  
С.А.Петров – Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова, ул. Дворянская, 2, Одесса, Украина, 65082, serpet2015@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-9390-4006>