

СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, АНТИОКСИДАНТНО СИСТЕМИ, ГУМОРАЛЬНО ЛАНКИ ІМУННОГО ЗАХИСТУ ТА ЕНДОГЕННО ІНТОКСИКАЦІ НА ТЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО РЕСПІРАТОРНОГО ДИСТРЕС-СИНДРОМУ В ЩУРІВ

СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, АНТИОКСИДАНТНО СИСТЕМИ, ГУМОРАЛЬНО ЛАНКИ ІМУННОГО ЗАХИСТУ ТА ЕНДОГЕННО ІНТОКСИКАЦІ НА ТЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО РЕСПІРАТОРНОГО ДИСТРЕС-СИНДРОМУ В ЩУРІВ – У статті наведено дані експериментального комплексного дослідження порушень перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантно системи, гуморально ланки імунного захисту й ендогенно інтоксикації у 38 щурів із ГРДС. Ініціацію ГРДС проведено на білих щурах за методикою G. Matute-Bello, Michael Matthay (2003 р.). Для оцінки порушень проведено аналіз 14 показників. Моделювання ГРДС у щурів призводить до достовірних змін більшості показників перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантно системи захисту, імунно відповіді та ендогенно інтоксикації. Вищевказана модель ГРДС викликає неоднозначні зміни активності ферментів антиоксидантно го захисту та супроводжується суттєвим зростанням вмісту в сироватці крові продуктів ендогенно інтоксикації.

ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ РЕСПИРАТОРНОМ ДИСТРЕС-СИНДРОМЕ У КРЫС – В статье приведены данные экспериментального комплексного исследования нарушений перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы, гуморального звена иммунной защиты и эндогенной интоксикации в 38 крыс с ОРДС. Инициация ОРДС проведена на белых крысах по методике G. Matute-Bello, Michael Matthay (2003 г.). Для оценки нарушений проведен анализ 14 показателей. Моделирование ОРДС у крыс приводит к достоверным изменениям большинства показателей перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы защиты, иммунного ответа и эндогенной интоксикации. Вышеуказанная модель ОРДС вызывает неоднозначные изменения активности ферментов антиоксидантной защиты и сопровождается существенным ростом содержания в сыворотке крови продуктов эндогенной интоксикации.

PECULIARITIES OF LIPID PEROXIDATION, ANTIOXIDATIVE SYSTEM AND IMMUNE RESPONSE DISORDERS IN EXPERIMENTAL ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME IN RATS – The article contains the results of experimental studies of complex disorders of lipid peroxidation, antioxidant system, humoral immune protection and endogenous intoxication in 38 rats with ARDS. Initiation of ARDS was conducted on white rats by the method of G. Matute-Bello, Michael Matthay, 2003 to assess violations of the analysis of 14 indicators. Modeling of ARDS in rats leads to reliable changes in most indicators of lipid peroxidation, antioxidant protection, immune response and endogenous intoxication. The above model of ARDS causes changes antioxidant of enzyme activity and is accompanied by a significant increase in serum content of products of endogenous intoxication.

Ключові слова: ГРДС, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, імунний захист, ендогенна інтоксикація.

Ключевые слова: ОРДС, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, иммунная защита, эндогенная интоксикация.

Key words: ARDS, lipid peroxidation, antioxidant defense system, the immune response system, endogenous intoxication.

ВСТУП За даними різних авторів, частота ГРДС коливалася від 150 тис. до 3,5 млн випадків на рік, а

летальність при даній патології сягала 30–65 % та співставима із летальністю при раку легень [1–4]. Згідно з ARDS Community щорічно в США діагностують майже 200 тис. випадків ГРДС у чоловіків, жінок та дітей, летальність при яких на даний час перевищує 40 % [5].

Ранні стадії формування ГРДС супроводжуються критичним порушенням мікроциркуляції. Це приводить до активації перекисного окиснення ліпідів. Пошкодження клітини, викликане перекисним окисненням ліпідів, може коливатися від збільшення проникності цитоплазматично мембрани аж до лізису клітини [6].

Критичне порушення мікроциркуляції, у свою чергу, характеризується недостатнім кровотоком у легенях, що також викликає окиснювальне пошкодження, незважаючи на присутність кисню в альвеолах. Порушення мікроциркуляції і реперфузія постійно супроводжуються вивільненням медіаторів запалення. При ішемі і гіпоксії тканин зазначено послідовне зниження активності супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази та каталази, підвищення утворення гідроксильного та гідропероксильного радикалів в умовах ацидозу. Під впливом бактеріальних токсинів, ферментів патогенності, ішемі незмінно включається лейкоцитарний механізм активації ПОЛ [7, 8].

У той же час кисневе голодування тканин і активація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) є типовими патологічними процесами, характерними для патогенезу багатьох захворювань, особливо тих, що мають гострий початок, гострий перебіг і супроводжуються процесом наростаючих деструктивних змін в органах, що має місце при ГРДС.

Враховуючи рівень смертності від ГРДС, можна зробити висновок, що запропоновані методи лікування на сьогодні не є повноцінними через те, що лікування спрямоване на симптоматичні прояви ГРДС. Всебічне вивчення основних ланок патогенезу ГРДС дозволить у подальшому покращити результати лікування. Більшість наукових досліджень із даної проблеми спрямовано на покращання та оптимізацію ШВЛ і кінезіотерапію, але запропоновані методи лікування на сьогодні не можуть вирішити питання оптимально доставки кисню до органів і систем, при ГРДС [9].

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Для реалізації даного завдання вирішено використати модель ГРДС на білих щурах (G. Matute-Bello, Michael Matthay, 2003), при якій у трахею вводять 0,1 нормальну соляну кислоту в дозі 2,0 мл/кг [10]. На думку P. R. Rosso [11], вказана модель має високий рівень експериментально відтворюваності ГРДС. Дослідження були проведені на 38 статевозрілих середньочутливих до гіпоксії білих щурах масою (200±25) г. Тварин було поділено на три групи: перша – контрольна (8 щурів), друга – тварини із змодельованим ГРДС на 1 год

(15 щурів), третя – тварини із змодельованим ГРДС на 2 год (15 щурів).

Про стан перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та системи антиоксидантного захисту судили за вмістом тіобарбітурово кислоти, дієнових кон'югат (ДК), трієнових кон'югат (ТК) [12], сульфгідрильних груп (SH-груп) [12], супероксиддисмутази (СОД) [13] і активності каталази [14]. Визначали концентрації імуноглобулінів у сироватці крові [15], церулоплазміну за загальноприйнятими методиками, показників ендогенно інтоксикації МСМ₂₅₄, МСМ₂₈₀ [16, 17]. Достовірність даних встановлювали за критерієм Стьюдента, а також за критеріями Левена–Брауна–Форсайта [18].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ Динаміка показників ПОЛ на тлі ГРДС. Як видно з таблиці 1 на тлі ГРДС істотно збільшувалися показники ПОЛ на першу і другу годину порівняно із контрольною групою. Так, вміст у сироватці крові ДК збільшувався на першу годину на 40,0 % (p<0,05), на другу годину – на 77,3 % (p<0,001). Відмічали тенденцію др. більшо величини досліджуваного показника на другу годину, порівняно із першою (p<0,10). Аналогічно більшим на першу і другу години був вміст у сироватці крові ТК. Слід зауважити, що відмінності

величини даного показника між першою та другою годинами були статистично достовірними.

Вміст у сироватці крові ТБК-активних продуктів ПОЛ на першу і другу години на тлі ГРДС був вищим від контролю більше ніж у 5 разів (p<0,001).

Показники антиоксидантного захисту на тлі ГРДС реагували неоднозначно. Активність СОД у сироватці крові на першу годину знижувалася (на 26,7 %, p<0,01), на другу – поверталася до контрольного рівня. Активність каталази сироватки крові як на першу, так і на другу години була істотно більшою від контролю (у середньому на 77,0 %, p<0,001). Вміст SH-групи на першу годину практично не змінювався, проте на другу істотно зменшувався (на 29,3 %, p<0,001).

Вміст у сироватці крові ЦП зростав. На першу годину більше ніж у 2 рази (p<0,001), на другу – у 3,6 раза (p<0,001) (табл. 2).

Динаміка показників імунологічно резистентності на тлі ГРДС. Через 1 год після моделювання ГРДС у сироватці крові уражених тварин, порівняно із контролем (табл. 3), істотно збільшувався вміст ЦІК (у 3,3 раза, p<0,001) та Іg G (у 3,0 рази, p<0,001). Через дві години вміст ЦІК та Іg G продовжували залишатися на такому ж рівні. Проте істотно підвищувався вміст

Таблиця 1. Показники ПОЛ у динаміці гострого респіраторного дистрес-синдрому (M±m)

Показник		Контроль (n=8)	ГРДС (n=8/5)	p
ДК, ммоль·л ⁻¹	1 год	0,75±0,01	1,05±0,12	<0,05
	2 год		1,33±0,08	<0,001
ТК, ммоль·л ⁻¹	1 год	0,76±0,01	1,06±0,13	<0,05
	2 год		1,44±0,06*	<0,001
ТБК-активні продукти ПОЛ, мкмоль·л ⁻¹	1 год	1,80±0,06	9,93±0,62	<0,001
	2 год		10,14±0,83	<0,001

Примітки: 1. Тут і надалі: * – достовірність відмінностей у групах між показниками на першу і другу години (* – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001); 2. n – у чисельнику кількість тварин на першу годину експерименту, у знаменнику – на другу.

Таблиця 2. Показники антиоксидантного захисту в динаміці гострого респіраторного дистрес-синдрому (M±m)

Показник		Контроль (n=8)	ГРДС (n=8/5)	p
СОД, ум.од.·мг ⁻¹	1 год	0,695±0,02	0,503±0,057	<0,01
	2 год		0,701±0,064'	>0,05
Каталаза, мкат·л ⁻¹	1 год	0,196±0,004	0,326±0,013	<0,001
	2 год		0,368±0,023	<0,001
SH-групи, мкмоль·л ⁻¹	1 год	0,975±0,022	1,018±0,140	>0,05
	2 год		0,689±0,051*	<0,001
ЦП, мг·л ⁻¹	1 год	1,06±0,01	2,86±0,31	<0,001
	2 год		3,86±0,19*	<0,001

Таблиця 3. Показники імунологічно резистентності в динаміці гострого респіраторного дистрес-синдрому (M±m)

Показник		Контроль (n=8)	ГРДС (n=8/5)	p
ЦІК, ум.од.	1 год	62,5±1,9	203,8±6,1	<0,001
	2 год		211,6±6,0	<0,001
Іg M, г·л ⁻¹	1 год	0,832±0,020	0,916±0,186	>0,05
	2 год		1,504±0,026**	<0,001
Іg G, г·л ⁻¹	1 год	1,188±0,023	3,560±0,353	<0,001
	2 год		3,567±0,138	<0,001

у сироватці крові Ig M. Порівняно із першою годиною спостереження цей показник збільшився на 64,2 % ($p < 0,01$), що стало статистично достовірно більшим, ніж у контролі (на 80,8 %, $p < 0,001$).

Динаміка показників ендогенно інтоксикації на тлі ГРДС та його корекції. Як видно із таблиці 4, на тлі

ГРДС вже з першо години збільшується у сироватці крові вміст продуктів ендогенно інтоксикації MCM₂₅₄, MCM₂₈₀ та EII ($p < 0,001$). Через дві години вміст молекул середньої маси підвищується, проте результат виявився статистично не достовірним. Відмічається статистично достовірне зростання EII (на 9,1 %, $p < 0,001$).

Таблиця 4. Показники ендогенно інтоксикації в динаміці гострого респіраторного дистрес-синдрому (M ± m)

Показник		Контроль (n=8)	ГРДС (n=8/5)	p
MCM ₂₅₄ , ум.од.	1 год	0,373±0,030	0,687±0,029	<0,001
	2 год		0,742±0,030	<0,001
MCM ₂₈₀ , ум.од.	1 год	0,379±0,034	0,706±0,028	<0,001
	2 год		0,787±0,031	<0,001
EII, %	1 год	42,5±0,6	83,2±1,1	<0,001
	2 год		90,8±1,4***	<0,001

ВИСНОВОК Ініціація ГРДС у щурів призводить до достовірних змін більшості показників, що характеризують стан перекисного окиснення ліпідів, показники антиоксидантного захисту на тлі ГРДС змінюються фазово, що очевидно відображає адаптаційну перебудову антиоксидантних систем організму в умовах патологічного процесу та супроводжуються суттєвим підвищенням вмісту в сироватці крові ЦІК та Ig G і зростанням вмісту у сироватці крові продуктів ендогенно інтоксикації.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Трещинский А. И. Руководство по интенсивной терапии / А. И. Трещинский, Ф. С. Глумчер. – К. : Вища шк., 2004. – 582 с.
2. ARDS Network. Incidence of acute lung injury in the United States / С. H. Goss, R. G. Brower, L. D. Hudson [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 31 (6). – P. 1607–1611.
3. Ware L. B. The acute respiratory distress syndrome / L. B. Ware *NEJM.* – 2000. – Vol. 342. – P. 1334–1349.
4. Atabai K. The pulmonary physician in critical care: Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: definitions and epidemiology / K. Atabai // *Thorax.* – 2002. – Vol. 57/ – P. 452–458.
5. Rocco P. R. Lung parenchyma remodeling in acute respiratory distress syndrome / P. R. Rocco, C. Dos Santos, P. Pelosi. *Minerva Anesthesiol.* – 2009. – Vol.;75(12). – P. 730–740.
6. Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: Time for a reevaluation / E. Abraham, M. A. Matthay, C. A. Dinarello [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2000 – Vol. 28, № 1. – P. 232–235.
7. Проскураков С. Я. Некроз – активная, управляемая форма программируемой клеточной гибели / С. Я. Проскураков, В. Л. Габой, А. Г. Коноплянников // *Биохимия.* – 2002. – Т. 67. – № 4. – С. 467–491.
8. Свободнорадикальное окисление и старение / В. Х. Хавинсон, В. А. Баринов, А. В. Арутюнян, Р. В. Малинин. – СПб. : Наука, 2003. – 327 с.
9. Imtiyaz H. Z. Hypoxia-inducible factors as essential regulators of inflammation / H. Z. Imtiyaz, M. C. Simon. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* – 2010. – Vol. 345. – P. 105–120.
10. Matute-Bello G. Pathogenesis of Acute Lung Injury: Experimental Studies / G. Matute-Bello, Michael Matthay // *Acute Respiratory Distress Syndrome.* – Boston, 2003. – P. 115–146.
11. Rocco P. R. Lung parenchyma remodeling in acute respiratory distress syndrome // P. R. Rocco, C. Dos Santos, P. Pelosi // *Minerva Anesthesiol.* – 2009. – Vol. 75(12). – P. 730–740.
12. Гріднев О. Є. Перекисне окиснення ліпідів і печінка / О. Є. Гріднев // *Сучасна гастроентерологія.* – 2005. – № 5 (25). – С. 80–83.
13. Чевари С. Роль супероксидредуктази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // *Лабораторное дело.* – 1985. – № 11. – С. 678–681.
14. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–18.
15. Чернушенко Е. Ф. Иммунологические методы исследований в клинике / Е. Ф. Чернушенко, Л. С. Когосова. – К. : Здоров'я, 1978. – 159 с.
16. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун, Р. М. Карибжанова // *Лабораторное дело.* – 1988. – № 9. – С. 22–24.
17. "Средние молекулы" как вероятные регуляторы системы эритрона у спортсменов-лыжников / И. А. Волчегорский, Д. А. Дятлов, Е. И. Львовская [и др.] // *Физиология человека.* – 1996. – Т. 22, № 3. – С. 136–137.
18. Гойго О. В. Практичне використання пакета STATISTIKA для аналізу медико-біологічних даних / О. В. Гойго. – К., 2004. – 76 с.

Отримано 04.07.11