

## ОСОБЛИВОСТІ ПАТОГЕНЕТИЧНИХ МЕХАНІЗМІВ ЕНДОГЕННО ІНТОКСИКАЦІ ТА ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГОСТРОМУ УРАЖЕННІ ЛЕГЕНЬ

ОСОБЛИВОСТІ ПАТОГЕНЕТИЧНИХ МЕХАНІЗМІВ ЕНДОГЕННО ІНТОКСИКАЦІ ТА ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГОСТРОМУ УРАЖЕННІ ЛЕГЕНЬ – У дослідженнях на білих щурах встановлено, що при гострому ураженні легень відбувається поглиблення ендogenous інтоксикації організму та активація гуморально ланки імунітету.

ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ ПОРАЖЕНИИ ЛЕГКИХ – В исследованиях на белых крысах установлено, что при остром поражении легких происходит углубление эндогенной интоксикации организма и активация гуморального звена иммунитета.

PECULIARITIES OF THE PATHOGENETIC MECHANISMS OF ENDOGENOUS INTOXICATION AND HUMORAL IMMUNITY AT EXPERIMENTAL ACUTE LUNG LESION – In experiments on white rats was shown that at acute lung lesion was increased endogenous intoxication of an organism and was activated humoral immunity.

**Ключові слова:** гостре ураження легень, ендogenous інтоксикація, гуморальна ланка імунітету.

**Ключевые слова:** острое поражение легких, эндогенная интоксикация, гуморальное звено иммунитета.

**Key words:** acute lung lesion injury, endogenous intoxication, humoral immunity.

**ВСТУП** До найбільш поширених синдромів у клінічній практиці відносять синдром ендogenous інтоксикації [1]. В останні роки у науковій літературі досить поширилася концепція сутності синдрому ендogenous інтоксикації (EI) – виникнення системного запалення, яке зумовлюють різні патологічні процеси, як наприклад, тканинна деструкція і виражена гіпоксія тканин [2]. Серед патологічних біохімічних процесів велику увагу приділяють активації протеолізу з порушенням загального ферментативного гомеостазу організму, яка корелює з іншими маркерами EI – лейкоцитарним індексом інтоксикації, циркулюючими імунними комплексами (ЦІК), молекулами середньої маси (МСМ), а також зміні імунного статусу [3, 4].

Як відомо, імунна система бере участь у забезпеченні сталості внутрішнього середовища організму завдяки синтезу аутоантитіл, які специфічно зв'язують ендogenous сполуки, нейтралізуючи їх патогенну дію, тим самим виконуючи захисну роль [3]. В нормі лімфоцитарний апарат бронхоальвеолярного дерева представлений як специфічними, так і неспецифічними ланками імунної системи. До гуморальних факторів місцевого захисту відносять імуноглобуліни класів А, М, G, які у сироватці крові опосередковано вказують на стан локальної імунної системи. Ig G, Ig M, а також ЦІК активують систему комплементу, яка є одним з медіаторів EI [4]. Активація системи комплементу є частиною патофізіологічного процесу при гострому ураженні легень (ГУЛ). Активований комплемент викликає секвестрацію лейкоцитів у легеневі капіляри, де відбувається їх агрегація. Нейтрофіли пошкоджують ендogenous

клеточні клітини через механізм, що вивільняє кисневі радикали, ейкозаноїди і протеази, які, в свою чергу, викликають протеоліз, що складає сутність синдрому EI [5]. Проте в науковій літературі досить мало уваги приділяється ролі ендogenous інтоксикації та гуморального імунітету в розвитку і прогресуванні ГУЛ.

Тому метою нашого дослідження стало вивчення характеру змін показників ендogenous інтоксикації та гуморального імунітету в крові лабораторних тварин при HCl-індукованому гострому ураженні легень та патогенетично обґрунтувати виявлені зміни.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Дослідження було проведено на 30 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 200-220 г, що утримувались на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету. Тварин поділили на 5 груп: перша – контрольна група, друга – ураження хлоридною кислотою тривалістю 2 год, третя – ураження хлоридною кислотою тривалістю 6 год, четверта – ураження хлоридною кислотою тривалістю 12 год, п'ята – ураження хлоридною кислотою тривалістю 24 год.

Щурів анестезували внутрішньоочеревинним введенням тіопенталу натрію в дозі 40 мг/кг маси тварини. Вентральну сторону шиї обробляли хлоргексидином і робили 0,5 см серединний розріз для візуалізації трахеї. Тварин розміщували горизонтально під кутом 45°, інсуліновим шприцом вводили в трахею HCl, рН 1,2 в дозі 1,0 мл/кг на вдиху. Тваринами контрольної групи вводили фізіологічний розчин в дозі 1,0 мл/кг.

Через 2, 6, 12 та 24 год проводили еутаназію щурів методом введення тіопенталу натрію в дозі 90 мг/кг маси тварини, дотримуючись правил гуманного ставлення до тварин. Кров для дослідження брали з порожнини серця. Ступінь вираження ендogenous токсичного синдрому оцінювали за вмістом у сироватці крові МСМ та еритроцитарного індексу інтоксикації [6, 7]. Вміст імуноглобулінів визначали спектрофотометричним методом з використанням наборів діагностичних моноспецифічних сироваток, вміст ЦІК у крові – спектрофотометричним методом [8].

Одержані результати статистично обробляли, обчислювали середню арифметичну варіаційного ряду (M), стандартну похибку середньої арифметично (m) та достовірність відмінностей (p).

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У ході аналізу представлених цифрових параметрів встановлено, що при ГУЛ, як і при деяких інших патологічних процесах, активуються катаболічні процеси, знижується детоксикаційна здатність організму, утворюються проміжні продукти протеолізу – пептиди середньої молекулярної маси, збільшується вміст ендотоксинів і розвивається синдром "метаболічно інтоксикації", який супроводжується пригніченням адаптаційних можливостей [6, 9]. МСМ використовуються як маркер інтоксикації різного генезу для визначення ступеня тяжкості патологічного процесу.

Як видно з таблиці 1, вміст молекул МСМ/254 (вміст ланцюгових амінокислот у середньомолекулярних пептидах та продуктах х розпаду) в сироватці крові шурів усіх груп спостереження збільшився. Так, через 2 год експерименту даний показник зріс на 15,45 % відносно контролю, через 6 год – на 15,35 % стосовно друго дослідно групи, через 12 год – на 20,62 % відповідно до третьо групи і через 24 год – на 14,63 % проти даних четверто дослідно групи. Слід зауважити, що вказані цифрові величини статистично достовірно відрізнялись між собою ( $p < 0,01$ ).

Проведені дослідження з визначення вмісту МСМ/280 (ароматичні амінокислоти) показали, що протягом 24 год спостереження х рівень достовірно зростає у всіх групах спостереження ( $p < 0,05$ ) і був найвищим через добу експерименту, тобто на 68,17 % стосовно контролю (табл. 1).

Порівнюючи отримані дані вмісту МСМ/254 і МСМ/280, можна говорити про однаправлені зміни середньомолекулярних пептидів при різних довжинах хвилі, які характеризуються достовірним зростанням протягом 24 год спостереження, що свідчить про наростання ЕІ.

Таблиця 1. Динаміка вмісту МСМ (ум. од.) у крові піддослідних груп тварин за умов ГУЛ

Показники	Перша дослідна група (контроль) n=6	Друга дослідна група (2 год) n=6	Третя дослідна група (6 год) n=6	Четверта дослідна група (12 год) n=6	П'ята дослідна група (24 год) n=6
Кількість тварин	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6
МСМ/254, ум.од.	366,67±10,42	423,33±9,39	488,33±8,52	589,00±15,55	675,17±12,38
p	$p_{1,2} < 0,01, p_{1,3} < 0,001, p_{1,4} < 0,001, p_{1,5} < 0,001, p_{2,3} < 0,001, p_{2,4} < 0,001, p_{2,5} < 0,001, p_{3,4} < 0,001, p_{3,5} < 0,001, p_{4,5} < 0,001$ .				
МСМ/280, ум.од.	198,5±3,36	213,5±4,43	258,83±7,48	311,67±3,17	395,17±13,89
p	$p_{1,2} < 0,05, p_{1,3} < 0,001, p_{1,4} < 0,001, p_{1,5} < 0,001, p_{2,3} < 0,001, p_{2,4} < 0,001, p_{2,5} < 0,001, p_{3,4} < 0,001, p_{3,5} < 0,001, p_{4,5} < 0,001$ .				
ЕІ, %	43,42±1,24	49,85±2,17	56,33±1,94	63,17±2,26	73,02±2,23
p	$p_{1,2} < 0,05, p_{1,3} < 0,001, p_{1,4} < 0,001, p_{1,5} < 0,001, p_{2,3} < 0,05, p_{2,4} < 0,001, p_{2,5} < 0,001, p_{3,4} < 0,05, p_{3,5} < 0,001, p_{4,5} < 0,01$ .				

Примітка. p – вірогідність відмінностей між дослідними групами.

У ході аналізу представлених цифрових параметрів еритроцитарного індексу інтоксикації встановлено, що даний показник зріс у 1,15 раза через 2 год експерименту відносно контролю, через 6 год – у 1,13 раза стосовно друго дослідно групи, через 12 год – в 1,12 раза відповідно до третьо групи і через 24 год в 1,16 раза проти даних четверто дослідно групи (табл. 1). Потрібно зауважити, що вказані цифрові величини статистично достовірно відрізнялись між собою ( $p < 0,05$ ).

Основна причина накопичення МСМ у сироватці крові пов'язана з посиленням х утворенням за рахунок появи надлишково кількості деформованих білкових метаболітів і продуктів, які мають у своєму складі вуглеводневі компоненти [10–12]. Раніше нами було доведено, що при ГУЛ відмічається зростання продуктів окиснювально модифікації білків нейтрального й основного характеру, що є основним токсичним субстратом. Багато авторів вважають середньомолекулярні олігопептиди основним біохімічним маркером, що відображає рівень патологічного білкового метаболізму [10, 11]. МСМ можуть мати схожість будови з регуляторними пептидами, чим впливати на життєдіяльність всіх органів і систем, здатні з'єднуватись з рецепторами на будь-якій клітині, блокуючи х, тим самим виконуючи патологічну роль [10]. При цьому встановлено, що накопичення в організмі ендотоксинів веде до порушень гемодинаміки, проникності мікросудин, функції дихальних ферментів, а також до метаболічного ацидозу на тлі структурних пошкоджень органів, зокрема легень, тканин, клітин та клітинних органел з виходом лізосомальних ензимів [10, 12].

Отже, синдром "метаболічно інтоксикації" тісно пов'язаний з функціональним станом біологічних мембран, оскільки знижує функціональну активність регуляторних систем, ініціює процеси пероксидації, зумовлює накопичення х дериватів, метаболітів з

наступною дестабілізацією окиснювального фосфорилювання, порушення функціонування клітинних мембран [13, 14].

Показники системи гуморального імунітету вивчали у всіх дослідних групах. У тварин із змодельованим ГУЛ спостерігається відсутність достовірних змін вмісту Іg М протягом 24 год експерименту ( $p < 0,05$ ), (рис. 1).

Вміст Іg А у тварин з ГУЛ достовірно зростає ( $p < 0,01$ ) вже на 2 год експерименту на 65,38 % відносно даних контролю, а через 6 год рівень даного показника піднімається на 23,72 % проти друго дослідно групи ( $p < 0,05$ ) і вдвічі стосовно даних контрольної групи. Потрібно зауважити, що хоча й вміст Іg А у четвертій та п'ятій дослідних групах був вірогідно вищим контролю, проте статистично не відрізнявся від даних попередніх експериментальних груп.

Вміст Іg G у тварин з ГУЛ достовірно зростає через 2 год на 29,68 % відносно даних контролю ( $p < 0,01$ ) і через 6 год на 24,62 % проти друго дослідно групи ( $p < 0,01$ ). Слід відмітити, що динаміка рівня Іg G була дещо схожою до змін Іg А. Так, хоча й вміст Іg G у четвертій та п'ятій дослідних групах був вірогідно вищим від контролю, проте статистично не відрізнявся від даних третьо експериментальних груп.

Відомо, що в бронхах є плазматичні клітини, що продукують Іg А, а на периферії бронхіального дерева зростає кількість плазматичних клітин, які синтезують ІgG, основна функція яких – захисна [15]. При інтратрахеальному введенні гідрохлоридно кислоти відбувається токсичний вплив як на верхні відділи дихальних шляхів, так і на периферичні відділи легень із розвитком системно запальної реакції, що опосередковано зумовлює зростання імуноглобулінів Іg А і G у периферичній крові.

Пошкоджуюча дія Іg G на легеневу тканину зумовлена активацією системи комплементу з наступним

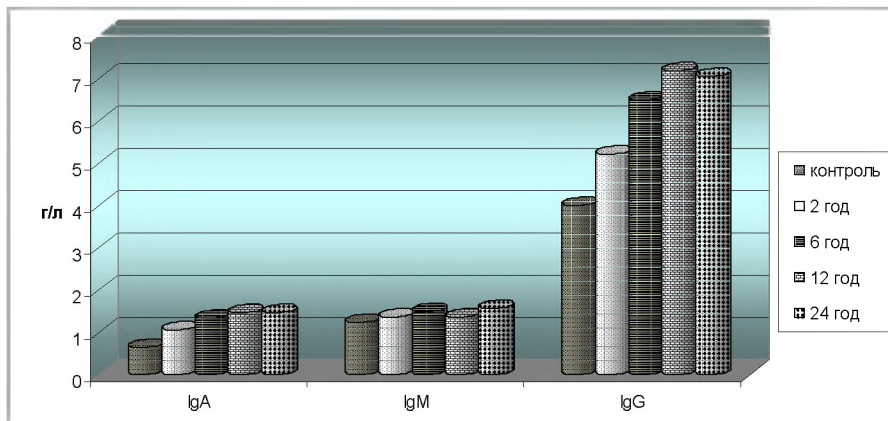


Рис. 1. Динаміка показників гуморального імунітету в сироватці крові щурів з ГУЛ.  
Примітка: \* – достовірність відмінностей між контрольною та дослідними групами ( $p < 0,01$ ).

залученням нейтрофілів в імунну відповідь. Нейтрофіли є відповідальними за подальше ураження тканини за рахунок генерації і реалізації токсичних активних форм кисню, і, напевне, за рахунок дії лізосомальних протеаз [16]. У попередніх дослідженнях нами показано, що при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридно кислоти, зростає рівень метаболітів оксиду азоту, перекисного окиснення білків та ліпідів [17]. Пошкоджуюча дія Ig A на легеневу тканину зумовлена активацією системи комплементу без залучення нейтрофілів в імунну відповідь. Іншим кандидатом можуть бути альвеолярні макрофаги, які здатні активувати продукцію достатньо кількості токсичних кисневих радикалів [18]. Дана гіпотеза може бути реалізована через систему комплементу: кількість продуктів активованого комплементу може бути недостатня для залучення нейтрофілів у патологічний процес нейтрофілів, але достатньою для активації альвеолярних макрофагів, що зумовлює генерацію вільних кисневих радикалів, які токсичні для легень [19]. Отримані нами попередні результати підтверджують припущення про регіонарну секвестрацію нейтрофілів у легенях за умов гострого ураження легень та гострого респіраторного дистрес-синдрому [20].

Однією з важливих фізіологічних функцій імуноглобулінів є нейтралізація антигенів, у тому числі й аутоантигенів, з утворенням ЦІК та наступною елімінацією з організму, яка спрямована на підтримку імунобіологічного гомеостазу. Але за певних умов ЦІК можуть фіксуватися у судинній стінці та під базальними мембранами у деяких внутрішніх органах, включаючи й легені, і викликати запальну реакцію [8, 15]. Тому проблемі дослідження ЦІК повинна приділятися значна увага, як одній з важливих ланок патогенезу імунного ураження органів та тканин організму.

Як видно з рисунка 2, вміст ЦІК у сироватці крові щурів усіх груп спостереження зріс. Так, через 2 год після інтратрахеального введення гідрохлоридно кислоти показник збільшився з  $(40,43 \pm 1,19)$  ум. од. і склав  $(47,13 \pm 0,81)$  ум. од., тобто підвищення показника від аналогічного контрольного становило 16,57%. Через 6 год експерименту рівень ЦІК становив  $(54,98 \pm 1,22)$  ум. од., що перевищувало в 1,17 раза результати друго

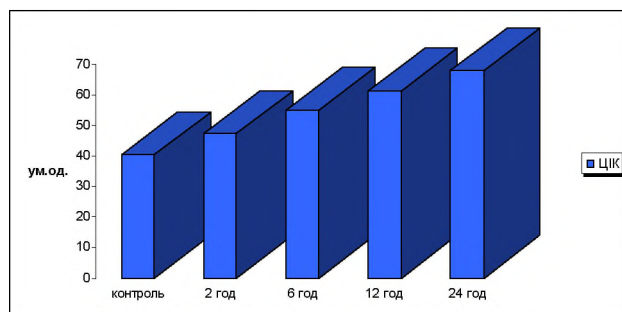


Рис. 2. Рівень циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові тварин з ГУЛ.

Примітка: \* – достовірність відмінностей між контрольною та дослідними групами ( $p < 0,01$ ).

дослідно групи ( $p < 0,001$ ). Через 12 год у змодельованих експериментальних умовах вміст ЦІК продовжив зростати і склав  $(61,28 \pm 0,87)$  ум. од., тобто на 11,46% був вищим порівняно з попередньою групою ( $p < 0,001$ ). Зміна досліджуваного показника через 24 год від початку експерименту була більш виражена відносно попереднього терміну спостереження і становила  $(67,97 \pm 1,08)$  ум. од. ( $p < 0,001$ ).

Встановлені зміни вказують на гіперреактивність В-клітин, а також на порушення механізмів елімінації ЦІК. Потрібно зауважити, що зростання ЦІК може бути непрямою ознакою активації комплементу, який веде до пошкодження тканин. Сформовані циркулюючі імунні комплекси взаємодіють практично зі всіма клітинами крові, з комплементом, а також рецепторами багатьох клітин органів і тканин [21]. Взаємодія ЦІК з імунокомпетентними клітинами призводить до модуляції імунної відповіді. Так, при взаємодії з моноцитарно-макрофагальними клітинами відбувається вихід протеолітичних ферментів, а при активації комплементу зростає продукція кінінів, анафілатоксинів, опсонінів, хемотаксинів, що має пошкоджуючий вплив на тканини [22].

**ВИСНОВКИ** 1. Встановлено, що у тварин з НСІ-індукованим гострим ураженням легень розвивається синдром ендогенно інтоксикації, про що свідчить зростання маркерів EI – середніх молекул (MCM/254, MCM/280) та еритроцитарного індексу інтоксикації.

2. Показано, що при даному патологічному синдромі активується гуморальна ланка імунно системи, що проявляється зростанням вмісту імуноглобулінів класу А і G та циркулюючих імунних комплексів у периферичній крові.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бакалюк О. Й. Синдром ендогенно інтоксикації, механізм виникнення, методи ідентифікації / О. Й. Бакалюк, Н. Я. Панчишин, С. В. Дзига // Вісник наук. досліджень. – 2000. – № 1. – С. 11–13.
2. Мисула І. Р. Загоєння кукси бронха після пульмонектомії у тварин з різною реактивністю / І. Р. Мисула, О. В. Вайда // Здобутки клініч. і експеримент. медицини. – 2003. – № 1. – С. 147.
3. Громашевська Л. Л. “Середні молекули” як один з показників “метаболічно інтоксикації” в організмі / Л. Л. Громашевська // Лаборат. діагностика. – 2000. – № 1. – С. 11–16.
4. Якобисяк М. Імунологія: пер. з польсько; за ред. проф. В. В. Чоп'як. – Вінниця: Нова книга, 2004. – 672 с.
5. Зайцев В. Г. Активні форми кислорода (синопсис) / В. Г. Зайцев // Успехи сучасної біології. – 2004. – Вып. 2. – С. 69–75.
6. Корякіна Е. В. Молекули середньої маси як інтегральний показник метаболічних порушень (обзор літератури) / Е. В. Корякіна, С. В. Белова // Клініч. лаб. діагностика. – 2004. – № 3. – С. 3–8.
7. Гаврилов В. Б. Определение тирозин- и триптофансодержащих пептидов в плазме крови по поглощению в УФ-области спектра / В. Б. Гаврилов, Н. Ф. Лобко, С. В. Конев // Клініч. лаб. диагн. – 2004. – Вып.3. – С. 12–16.
8. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – Одеса: “АстроПринт”. – 1999. – С. 240–243.
9. Куриліна Т. В. Патогенетичні механізми формування перинатальної патології у доношених новонароджених за умов звичного невиношування вагітності у матерів / Т. В. Куриліна // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2006. – № 1. – С. 5–8.
10. Дисбаланс перекисного окислення ліпидів і антиоксидантної захисту і рівень середніх молекул у дітей, больных хронічним гломерулонефритом / Е. А. Вельдер, Н. И. Аверьянова, В. М. Аксёнова [и др.] // Матер. науч. сессии Перм. гос. мед. академии. – Пермь, 2000. – С. 23–24.
11. Роль ліпидов фракції середніх молекул в характеристиках патологічного процесу / В. Ш. Промыслов, Л. И. Левченко, М. Л. Демчук [и др.] // Вопр. мед. химии. – 1989. – Вып. 4. – С. 105–107.
12. Юдакова О. В. Интенсивность ПОЛ и АОА, уровень молекул средней массы как показателя эндогенной интоксикации при распространённом перитоните / О. В. Юдакова, Е. В. Григорьев // Клініч. лаб. диагн. – 2004. – Вып. 10. – С. 20–22.
13. Волчегорский И. А. Влияние “средних молекул”, выделенных из плазмы крови интактных и обожженных животных, на клеточный состав культур эритробластических островков костного мозга / И. А. Волчегорский, Н. В. Тишевская, Д. А. Кузнецов // Вестник РАМН. – 2002. – № 2. – С. 30–36.
14. Морфофункціональні зміни в легенях лабораторних тварин у патогенезі експериментального хронічного бронхіту токсично та пилово етіології / М. Г. Карнаух, В. Д. Крушевський, С. П. Луговський, М. А. Комаров // Гігієна населених місць. – 2003. – Вып. 41. – С. 53–58.
15. Казмірчук В. Є. Клінічна імунологія і алергологія / В. Є. Казмірчук, Л. В. Ковальчук. – Вінниця: Нова книга – 2006. – С. 267–275.
16. Acute lung injury in rat caused by immunoglobulin A immune complexes / K. J. Johnson, B. S. Wilson, G. O. Till, P. A. Ward // J. Clin. Invest. – 1984. – Vol. 74(2). – P. 358–369.
17. Гришук Л. А. Динаміка перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в щурів за умов гострого ураження легень / Л. А. Гришук, М. І. Марущак // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2011. – № 2 (05). – С. 16–20.
18. Lama V. N. Resting and exercise physiology in interstitial lung diseases / V. N. Lama, F. J. Martinez // Clin. Chest. Med. – 2004. – Vol. 25, № 3. – P. 435–453. 0
19. Fink M. P. Role of reactive oxygen and nitrogen species in acute respiratory distress syndrome / M. P. Fink // Curr. Opin. Crit. Care. – 2002. – Vol. 8. – P. 6–11.
20. Патогенетична роль нейтрофільних гранулоцитів у розвитку гострого ураження легень / А. А. Гудима, М. І. Марущак, Г. Г. Габор, М. І. Куліцька // Буковинський медичний вісник. – 2011. – № 3. – С. 17–21.
21. Салтикова Г. В. Значення системи місцевого імунітету для пацієнтів, які часто та тривалий час хворіють на респіраторні інфекції / Г. В. Салтикова // Therapia. – 2008. – № 2. – С. 33–34.
22. Крушевський В. Д. Співвідношення вмісту та розміру циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові при експериментальному токсичному, пиловому та токсико-пиловому бронхіті у щурів / В. Д. Крушевський, В. А. Стежка // Український журнал з проблем медицини праці. – 2009. – № 1(17). – С. 65–71.

Отримано 20.07.11