

**ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАМІСНОЇ СУРФАКТАНТНОЇ ТЕРАПІЇ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ
ПРОЯВІВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ТКАНИНІ ЛЕГЕНЬ У ДИНАМІЦІ
ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ**

У тканині легень при опіковій травмі відбуваються складні структурні та метаболічні зміни в результаті активації вільнорадикальних процесів на тлі зменшення активності ферментів антиоксидантного захисту і наростання проявів ендотоксемії. Корекція термічної травми препаратом сурфактанту сприяє зниженню активності вільнорадикальних процесів та підвищенню активності антиоксидантних ферментів у тканині легень і крові піддослідних тварин, відновленню прооксидантно-антиоксидантної рівноваги та, як наслідок, зменшенню в них проявів ендогенної інтоксикації.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: термічна травма, легені, сурфактант, ендогенна інтоксикація, антиоксидантна система.

ВСТУП. Оксидативний стрес відіграє важливу роль у патогенезі багатьох захворювань респіраторної системи [2]. Одним із факторів, які ініціюють оксидативний стрес, є активні форми кисню, що продукуються в процесі фагоцитозу поліморфноядерними лейкоцитами. Порушення продукування фагоцитами метаболітів кисню належать до причин розвитку і несприятливого перебігу захворювань системи дихання. У вогнищі легеневого запалення накопичується продукт часткового відновлення кисню – супероксид-аніон. Він і оксид азоту піддаються швидкій радикал-радикальній взаємодії з утворенням медіатора окисного клітинного пошкодження – пероксинітриду. Останній викликає пошкодження білків, ліпідів клітинних мембран і судинного ендотелію, збільшує агрегацію тромбоцитів, бере участь у процесах ендотоксемії. Вільні радикали спричиняють токсичне пошкодження дихальних шляхів, посилюють запалення [3].

Захист від пошкоджувального впливу АФК забезпечують антиоксидантні ферменти: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (Кат), ферменти редокс-системи глутатіону. В нормі оксиданти-антиоксиданти перебувають у рівновазі. Порушення цього балансу в бік оксидантів викликає розвиток оксидативного стресу.

Оскільки ендотоксикоз і тканнна гіпоксія є одними з постійних патогенетичних ланок метаболічних порушень у системі гомеостазу та одним з пускових механізмів у розвитку ураження легень у хворих із термічним опіком,

© З. М. Небесна, К. С. Волков, Н. Є. Лісничук, І. Я. Демків, С. І. Яворська, 2015.

пошук шляхів корекції вказаних змін є досить актуальним. Патогенез розвитку респіраторних ускладнень, які виникають на фоні опікової травми (ОТ), дозволяє розглядати ураження легень здебільшого як “сурфактантзалежний” процес [9]. Це є підставою для включення до комплексу лікувальних заходів при захворюваннях системи дихання замісної сурфактантної терапії з використанням екзогенних сурфактантів.

Метою даного дослідження було з'ясування змін показників окисно-відновних реакцій, активності ферментів антиоксидантної системи та маркерів ендотоксемії за умов експериментальної опікової травми і при застосуванні екзогенного препарату сурфактанту “Куросурф”.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 72 нелінійних білих щурах-самцях масою (185±5) г, яких утримували у стандартних умовах віварію. Усі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, а також дотримуючись Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними [7, 13]. Щурів було поділено таким чином: 1-ша група – інтактні тварини (8 особин); 2-га – тварини з опіковою травмою (32 особини); 3-тя – тварини з опіковою травмою, яким інтратрахеально вводили екзогенний препарат сурфактанту “Куросурф” (32 особини).

Опікову травму наносили під кетаміновим наркозом на епіловану поверхню шкіри спини

тварини двома мідними пластинами, нагрітими до температури 97–100 °С, протягом 15 с. Розміри ділянки ураження склали 18–20 % поверхні тіла щура. Під загальним наркозом одноразово проводили інтратрахеальну інстиляцію екзогенного препарату сурфактанту “Куросурф” у дозі 300 мг/кг маси тіла тварини.

Тварин виводили з експерименту під кетаміновим наркозом на 3, 7, 14 і 21 доби, що відповідає стадіям ранньої та пізньої токсемії, септикотоксемії опікової хвороби. Токсичність крові оцінювали за еритроцитарним індексом інтоксикації (ЕІІ) [10] та вмістом середньомолекулярних пептидів (СМП), а також їх низько- і високомолекулярних фракцій [8, 11]. Досліджуючи вміст СМП, обчислювали їх коефіцієнт ($K_{\text{СМП}}$) [11]. У гомогенаті тканини легень визначали концентрацію малонового діальдегіду (МДА) [1], дієнових та трієнових кон'югатів (ДК, ТК) [5], активність Кат і СОД [6, 12]. Концентрацію церулоплазміну (ЦП) визначали в сироватці крові за методикою [4]. Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського в програмному пакеті Statsoft STATISTICA.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Ендогенна інтоксикація є неспецифічним синдромом, характерним для багатьох захворювань, що супроводжуються посиленням вільнорадикальних процесів. Токсичні метаболіти ПОЛ спричиняють деструкцію плазматичних та цитоплазматичних мембран, призводять до розвитку токсемії – виходу в кров з локального осередку токсинів, що викликають генералізацію патологічного процесу.

Одним із способів діагностики ендогенної інтоксикації є дослідження проникності мембран еритроцитів.

У таблиці наведено дані, які вказують на зміну ЕІІ при змодельованому термічному опіку порівняно з контрольним показником. На 3, 7 та 14 доби експерименту ЕІІ зріс на 46,9; 68,4 і 69,2 % відповідно, на 21 добу – на 33,8 %. Результати виявились достовірними ($p < 0,001$) в усіх випадках, що свідчило про підвищення проникності мембрани еритроцитів після опікової травми.

Важливими маркерами ендогенного токсичного синдрому є СМП, а саме СМП₁ та СМП₂. За умов змодельованого патологічного процесу спостерігали збільшення фракції СМП з більшою молекулярною масою, які є продуктами деградації білків-ферментів, нуклеотидів та структурних білків. Встановлено підвищення $K_{\text{СМП}}$ у групі щурів із змодельованим термічним опіком порівняно з аналогічним показником у контрольній групі тварин упродовж всіх термінів спостереження, що вказувало на виражене збільшення вмісту як ланцюгових, так і ароматичних амінокислот у складі пептидних компонентів СМП. Зростання середньомолекулярних пептидів було більш вираженим для пулу СМП₂₈₀, що свідчило про переважне підвищення кількості ароматичних амінокислот у складі середніх молекул.

Введення препарату сурфактанту “Куросурф” призвело до зниження рівня ендогенної інтоксикації та сприяло зменшенню проявів токсичного синдрому, який наростав у легенях за умов опікової травми (рис. 1). Так, спостерігали достовірне зменшення ЕІІ на 3, 7, 14 та 21 доби експерименту на 16,2; 26,0; 28,2 і 12,9 % відповідно порівняно з групою

Таблиця – Рівень ендогенної інтоксикації за умов опікової травми та при її корекції препаратом сурфактанту “Куросурф” ($M \pm m$)

Показник	Контроль	Модель	Термін експерименту			
			3 доба	7 доба	14 доба	21 доба
ЕІІ, %	57,33±0,72	опік	84,21±0,65***	96,57±0,61***	97,03±0,28***	76,68±0,75***
		опік+ лікування	70,55±0,13###	71,47±0,11###	69,62±0,19###	66,77±0,13###
СМП ₁	0,058±0,001	опік	0,066±0,002***	0,076±0,002***	0,071±0,001***	0,061±0,001*
		опік+ лікування	0,063±0,002	0,074±0,002	0,068±0,001	0,060±0,001
СМП ₂	0,055±0,001	опік	0,068±0,002***	0,079±0,002***	0,074±0,001***	0,062±0,001***
		опік+ лікування	0,061±0,001#	0,070±0,001##	0,064±0,001###	0,055±0,001###
$K_{\text{СМП}}$	0,95±0,02	опік	1,03±0,03	1,04±0,03*	1,04±0,03*	1,02±0,02
		опік+ лікування	0,97±0,02	0,96±0,02	0,94±0,01#	0,92±0,01###

Примітки:

1. * – показники, які статистично достовірно відрізняються від аналогічних у контрольній групі тварин (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$).

2. # – показники, які статистично достовірно відрізняються від аналогічних у групі тварин з опіковою травмою (# – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$).

тварин, яким сурфактант не вводили. Встановлено також зменшення вмісту як ланцюгових (СМП₁), так і ароматичних амінокислот (СМП₂) у складі середньомолекулярних пептидів, що підтверджувалося зниженням $K_{\text{СМП}}$ упродовж всіх термінів спостереження (табл.).

Про інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення судили за концентрацією МДА, ДК та ТК. Результати дослідження вказаних показників представлено на рисунку 1, Б.

Встановлено, що змодельована опікова травма призводила до суттєвого зростання концентрації МДА у гомогенаті легень на 3, 7, 14 та 21 доби експерименту – в 3,2; 6,9; 4,9 та 4,2 раза відповідно ($p < 0,001$) порівняно з аналогічними показниками у контрольній групі тварин.

Відомо, що активація ПОЛ у тканині легень викликається радикалами $\text{OOC}\cdot$, які, взаємодіючи з ліпідами, утворюють дієнові та трієнові радикали. Результати дослідження концентрації ДК та ТК показали, що дані показники достовірно зростали в усі терміни спостереження (рис. 1, Б).

При опіковій травмі у тканині легень на 3, 7, 14 та 21 доби спостерігали зниження активності таких антиоксидантних ферментів, як Кат (у 1,3; 1,7; 2,1; 1,4 раза), СОД (у 1,5; 2,1; 1,9; 1,5 раза) і ЦП (у 1,7; 2,8; 2,4; 2,0 раза відповідно), порівняно з аналогічними показниками в контрольній групі тварин (рис. 1, А).

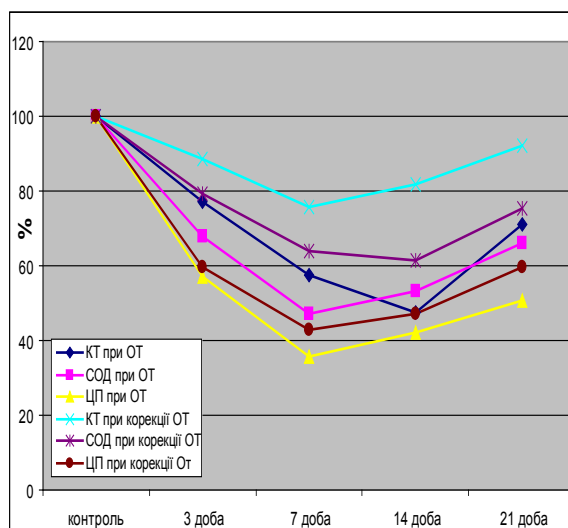
З метою корекції стану тканини легень тварин за умов опікової травми було використано препарат сурфактанту “Куросурф”. При його введенні концентрація МДА в тканині легень знижувалася

у всі терміни спостереження ($p < 0,001$) порівняно з групою щурів, яким корекцію не здійснювали. У гомогенаті легеневої тканини тварин цієї групи спостерігали також тенденцію до зменшення концентрації ДК та ТК (рис. 1, Б).

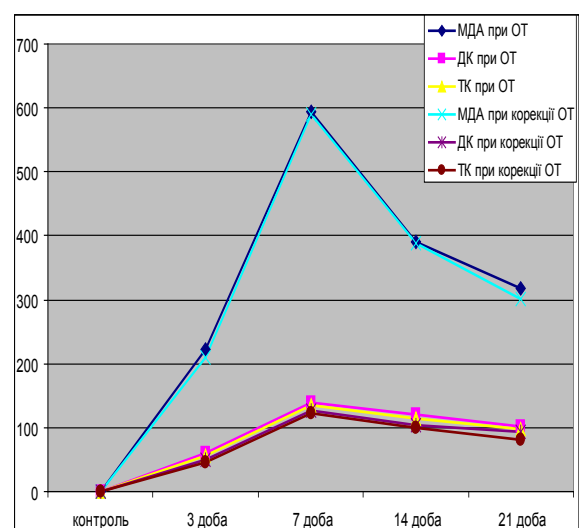
Застосування коригувального чинника призвело до зростання активності Кат та СОД у гомогенаті тканини легень, а також сприяло відновленню концентрації ЦП у сироватці крові в усі терміни спостереження (рис. 1, А).

Так, активність Кат у гомогенаті тканини легень на 3 добу спостереження зросла на 11,6 %, на 7 добу – на 18,2 %, на 14 добу – на 34,4 %, на 21 добу – на 21,1 % порівняно з аналогічними показниками у групі уражених тварин, яким препарат не вводили. Активність СОД у тканині легень при введенні сурфактанту “Куросурф” підвищувалась на 11,5; 16,9; 8,3 і 9,6 % відповідно до днів спостереження. Аналогічну тенденцію до зростання в динаміці експерименту встановлено при дослідженні концентрації ЦП у піддослідних тварин із змодельованим термічним ураженням, яке коригували шляхом введення препарату сурфактанту “Куросурф”.

ВИСНОВКИ. Застосування препарату сурфактанту “Куросурф” позитивно впливає на організм піддослідних тварин: у всі терміни спостереження встановлено тенденцію до зменшення проявів ендотоксемії; виявлено зниження активності вільнорадикальних процесів і підвищення активності антиоксидантних ферментів у тканині легень та крові піддослідних тварин і відновлення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.



А



Б

Рис. 1. Застосування препарату сурфактанту “Куросурф” з метою корекції в білих щурів опікової травми (А – динаміка антиоксидантних показників у групі тварин з опіковою травмою та при її корекції; Б – зміни прооксидантних показників у групі тварин з опіковою травмою та при її корекції).

Перспективним для подальшого дослідження є встановлення доцільності й ефективності поєданого застосування ранозагоювальних, детоксикуючих і мембраностабілізуючих

середників з метою попередження або пом'якшення небажаних наслідків опікової травми та їх негативного впливу на структуру тканини легень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Медицина, 1972. – 252 с.
2. Волков И. К. Антиоксидантная терапия при хронических заболеваниях легких у детей / И. К. Волков // Педиатрия (приложение к журналу "Consilium Medicum"). – 2007. – 9, № 1. – С. 43–44.
3. Звягина Т. В. Клиническое значение изменений метаболизма оксида азота в пульмонологии / Т. В. Звягина, Т. В. Аникеева, Т. М. Белоконь // Укр. пульмонолог. журн. – 2002. – № 1. – С. 66–68.
4. Колб В. Г. Определение активности церулоплазмينا в крови / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – М. : Беларусь, 1976. – 312 с.
5. Колесова О. Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова, А. А. Маркин, Т. Н. Федорова // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
6. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
8. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях : метод. рек. / [Н. И. Габриэлян, Э. Р. Левицкий, А. А. Дмитриев и др.]. – М., 1985. – 18 с.
9. Соодаева С. К. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания / С. К. Соодаева // Пульмонология. – 2006. – № 5. – С. 122–126.
10. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
11. "Средние молекулы" – образование и способы определения / В. В. Николайчик, В. В. Кирковский, В. М. Маин [и др.] // Лаб. дело. – 1989. – № 8. – С. 31–33.
12. Чевари С. Роль супероксидредуктазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – № 123. – 52 p.

З. М. Небесна, К. С. Волков, Н. Е. Лисничук, И. Я. Демкив, С. И. Яворская
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ СУРФАКТАНТНОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПРОЯВЛЕНИЙ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ТКАНИ ЛЕГКИХ В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

Резюме

В ткани легких при ожоговой травме происходят сложные структурные и метаболические изменения в результате активации свободнорадикальных процессов на фоне уменьшения активности ферментов антиоксидантной защиты и нарастания проявлений эндотоксемии. Коррекция термической травмы препаратом сурфактанта способствует снижению активности свободнорадикальных процессов и по-

вышению активности антиоксидантных ферментов в ткани легких и крови подопытных животных, восстановлению прооксидантно-антиоксидантного равновесия и, как результат, уменьшению в них проявлений эндогенной интоксикации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: термическая травма, легкие, сурфактант, эндогенная интоксикация, антиоксидантная система.

Z. M. Nebesna, K. S. Volkov, N. Ye. Lisnychuk, I. Ya. Demkiv, S. I. Yavorska
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

THE EFFICACY OF SUBSTITUTIVE SURFACTANT THERAPY FOR CORRECTION OF OXIDATIVE STRESS MANIFESTATIONS IN LUNG TISSUE AFTER EXPERIMENTAL THERMAL INJURY IN DYNAMIC

Summary

Complex structural and metabolic changes in lung tissue after burn injury occur as a result of free radical processes activation under decrease of antioxidant protection enzymes activity and increase of endotoxemia. The correction of thermal trauma by surfactant reduces free radical processes and increases antioxidant enzymes activity in the blood and lung tissue of experimental animals and restores prooxidant-antioxidant balance that consequently causes the decrease of endogenous intoxication intensity.

KEY WORDS: thermal injury, lung, surfactant, endogenous intoxication, antioxidant system.

Отримано 03.03.15

Адреса для листування: З. М. Небесна, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.