

ЗМІНИ ОКИСНО-ВІДНОВНИХ РЕАКЦІЙ У ТКАНИНІ ЛЕГЕНЬ ЗА УМОВ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ ТА ПРИ ЇЇ КОРЕКЦІЇ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ЛІОФІЛІЗОВАНОГО КСЕНОДЕРМОІМПЛАНТАТА Й ЕКЗОГЕННОГО ПРЕПАРАТУ СУРФАКТАНТУ

Після експериментальної термічної травми в організмі піддослідних тварин на фоні активації процесів вільнорадикального окиснення і зниження антиоксидантної активності та наростання проявів ендотоксемії виникає і розвивається оксидативний стрес. Поєднане застосування препарату сурфактанту і субстрату ліофілізованої ксеношкіри після опіків шкіри призводить до суттєвого зниження проявів ендотоксемії, пригнічення процесів ліпопероксидації та відновлення функціональної активності антиоксидантного захисту.

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

ВСТУП. Опікова хвороба – специфічний симптомокомплекс, який розвивається після термічної травми і супроводжується пошкодженням усіх систем, які саморегулюються [9]. Вона є не ускладненням опіків, а закономірним їх розвитком, її тяжкість прямо пропорційна площі та глибині опікових ран. Опіковий шок, як і раніше, розглядають як гіповолемічний [3], який супроводжується тканинною гіперперфузією. Патолофізіологічною основою опікового шоку є необмежена системна дія медіаторів запалення внаслідок виснаження або неспрацювання бар'єрних механізмів захисту [8, 15].

Ексудативна плазмовтрата, яка призводить до гіповолемії, зумовлює прогресуючі розлади центральної гемодинаміки і мікроциркуляції. Їх прояви на системному, органному і тканинному рівнях становлять клінічну та лабораторну симптоматику шоку [9, 15]. При обширних глибоких опіках одразу після травми запускаються різні патологічні процеси, формуючи патогенез опікової хвороби. Однією з перших дестабілізується система гемостазу у вигляді ДВЗ-синдрому з тромбозами і кровотечами [2].

При опіковому шоку порушується обмін речовин не тільки в клітині, а також між нею і позаклітинним середовищем, головним чином, за рахунок дестабілізації цитоплазматичних мембран. Доведено, що термічне та гіпоксичне

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

пошкодження клітин розповсюджується і на субклітинні структури – мітохондрії, що є основними окисно-відновними структурами циклу Кребса. Відбувається пошкодження лізосом і вивільняються ферменти гідролізу, гліколізу, ліполізу та протеолізу, які призводять до додаткового руйнування клітинних мембран різних тканин і появи в крові обпечених великої кількості біологічно активних речовин, здатних істотно впливати на гомеостаз організму і сприяти розвитку хронічної ендотоксемії та оксидативного стресу [2].

Метою дослідження було з'ясувати особливості змін аналітичних маркерів ендотоксемії та особливості перебігу окисно-відновних реакцій у тканині легень за умов опікової травми шкіри та при коригувальному застосуванні субстрату ліофілізованого ксенодермотрансплантата шкіри й екзогенного препарату сурфактанту "Куросурф".

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 68 нелінійних білих щурах-самцях масою тіла (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 [4,

14]. Щурів поділили таким чином: 1-ша група – інтактні тварини (8 особин); 2-га – тварини з опіковою травмою (30 особин); 3-тя – тварини з опіковою травмою, яким було проведено ранню некректомію уражених ділянок шкіри і рану яких закрито ліофілізованою ксеношкірою з одночасним інтратрахеальним введенням екзогенного препарату сурфактанту “Куросурф” (30 особин).

Опікову травму наносили під кетаміновим наркозом на епільовану поверхню шкіри спини тварини двома мідними пластинами площею 14,5 см², нагрітими до температури 97–100 °С, протягом 15 с. Розміри ділянки ураження склали 18–20 % поверхні тіла щура. Ранню некректомію уражених ділянок шкіри проводили на 2 добу після нанесення опіку. Рану, яка утворилась, покривали подрібненим субстратом ліофілізованого ксенодермотрансплантата, який дозволено для клінічного застосування в Україні. Одночасно 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. Прояви синдрому ендотоксемії оцінювали за еритроцитарним індексом інтоксикації (EII) [11] та вмістом середньомолекулярних пептидів (СМП), а

також їх низько- і високомолекулярних фракцій [10]. Досліджуючи вміст СМП, обчислювали їх коефіцієнт ($K_{\text{СМП}}$) [12]. У гомогенаті тканини легень визначали концентрацію малонового діальдегіду (МДА) [1], дієнових і трієнових кон'югатів (ДК, ТК) [6], активність каталази (Кат) та супероксиддисмутази (СОД) [7, 13]. Концентрацію церулоплазміну (ЦП) визначали в сироватці крові за методикою [5].

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. У результаті змодельованого термічного опіку посилювалось пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ), яке є універсальним маркером пошкодження тканин (табл.). Встановлено, що концентрація МДА в легенях щурів достовірно збільшувалась, порівняно з контролем, у 3,2 раза на 3 добу змодельованого термічного опіку, на 7 добу – в 6,9 раза, на 14 добу – в 4,9 раза, на 21 добу – в 4,2 раза ($p < 0,001$). Найвищі рівні досліджуваного показника відмічали на 7 та 14 доби експерименту.

Активация процесів вільнорадикального окиснення в тканині легень за умов термічного опіку призводила також до зростання концентрації ДК та ТК, первинних продуктів ліпопероксидації. Так, концентрація ДК достовірно підвищувалась на

Таблиця – Зміни показників прооксидантно-антиоксидантного балансу за умов опікової травми та при її корекції субстратом ліофілізованого ксенодермотрансплантата і препаратом сурфактанту “Куросурф” ($M \pm m$)

Показник	Контроль	Модель	Термін експерименту			
			3 доба	7 доба	14 доба	21 доба
МДА, мкмоль/кг	2,17±0,04	опік	6,99±0,09***	15,07±0,07***	10,64±0,07***	9,05±0,06***
		опік+ лікування	4,74±0,03###	4,17±0,02###	2,94±0,03###	2,64±0,02###
ДК, ум. од./г	4,96±0,04	опік	7,92±0,08***	11,89±0,06***	10,89±0,06***	10,05±0,08***
		опік+ лікування	5,86±0,02###	5,64±0,02###	5,43±0,02###	4,97±0,02###
ТК, ум. од./г	5,06±0,06	опік	7,93±0,04***	11,94±0,03***	10,89±0,06***	9,99±0,07***
		опік+ лікування	5,80±0,02###	5,62±0,02###	5,19±0,02###	5,10±0,02###
Кат, мкат/кг	4,60±0,04	опік	3,54±0,04***	2,64±0,03***	2,18±0,02***	3,27±0,02***
		опік+ лікування	3,92±0,03###	3,96±0,03###	4,29±0,02###	4,41±0,03###
СОД, ум. од./мг	0,540±0,003	опік	0,366±0,003***	0,255±0,004***	0,288±0,003***	0,356±0,004***
		опік+ лікування	0,481±0,002###	0,495±0,002###	0,523±0,002###	0,535±0,002###
ЦП, г/л	25,77±0,32	опік	14,76±0,21***	9,17±0,12***	10,88±0,21***	13,09±0,06***
		опік+ лікування	22,13±0,02###	23,81±0,02###	24,28±0,01###	25,42±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 (# – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$).

3, 7, 14 та 21 доби спостереження (в 1,6; 2,4; 2,2 та 2,0 рази відповідно) порівняно з аналогічним показником контрольної групи тварин. Подібну тенденцію до зростання спостерігали і при дослідженні концентрації ТК.

За умов термічної травми у тканині легень знижувалась активність таких антиоксидантних ферментів, як Кат та СОД. Активність Кат достовірно зменшувалась відносно контрольного показника: в 1,3 рази – на 3 добу дослідження, в 1,7 рази – на 7 добу, у 2,1 рази – на 14 добу та в 1,4 рази – на 21 добу експериментальної опікової травми ($p < 0,001$). Активність СОД у тканині легень також знижувалась порівняно з аналогічним показником контрольної групи тварин: на 3 добу спостереження – в 1,5 рази, на 7 добу – у 2,1 рази, на 14 добу – в 1,9 рази та на 21 добу – в 1,5 рази ($p < 0,001$). Змодельована термічна травма викликала достовірне зменшення в сироватці крові концентрації ЦП на 3, 7, 14 та 21 доби спостереження (в 1,7; 2,8; 2,4 та 2,0 рази відповідно, $p < 0,001$).

Активізація процесів вільнорадикального окиснення, порушення окисно-відновної рівноваги в бік переважання активності окиснювальних процесів призводили до наростання проявів синдрому ендогенної інтоксикації, на що вказувало збільшення ЕІІ: на 3 добу – на 46,9 %, на 7 добу – на 68,4 %, на 14 добу – на 69,2 %, на 21 добу – на 33,8 % ($p < 0,001$ для всіх термінів спостереження відносно аналогічного показника неуражених тварин).

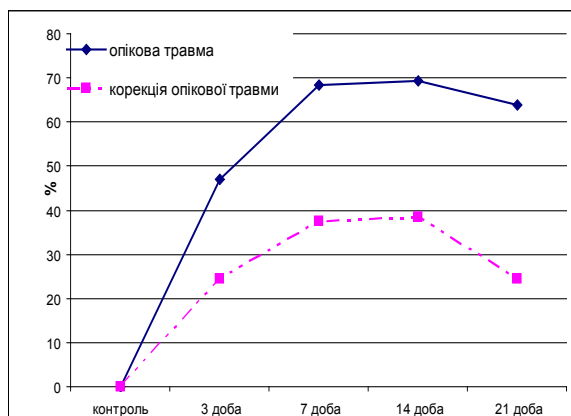
Важливим маркером синдрому ендотоксемії є визначення вмісту фракцій середньомолекулярних пептидів (СМП), а саме СМП₁ та СМП₂. За умов змодельованого патологічного процесу в усі терміни спостереження встановлено зростання фракцій СМП як з більшою молекулярною масою, зокрема СМП₂, які є продуктами деградації

білків-ферментів, нуклеотидів та структурних білків, так і СМП₁, у складі яких переважають ланцюгові (аліфатичні) амінокислоти (гліцин, аланін, валін, лізин) порівняно з аналогічними показниками інтактної групи тварин. Одночасно відзначено підвищення $K_{СМП}$ у всі терміни спостереження (рис.).

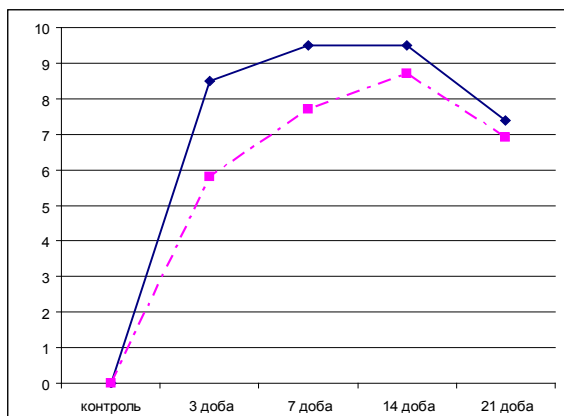
З метою корекції експериментальної опікової травми ми використовували в поєднанні подрібнений субстрат ліофілізованого ксенодермотрансплантата і препарат сурфактанту “Куросурф”.

За умов проведеної корекції концентрація МДА в тканині легень знижувалася у всі терміни спостереження порівняно з групою уражених тварин: на 3 добу – в 1,5 рази, на 7 добу – в 3,6 рази, на 14 добу – в 3,6 рази та на 21 добу – в 3,4 рази ($p < 0,001$). У цій групі щурів у гомогенаті тканини легень спостерігали також тенденцію до зниження концентрації ДК та ТК (табл.).

Застосування коригувальних чинників призвело до зростання активності Кат та СОД у гомогенаті тканини легень. Так, активність Кат на 3 добу спостереження підвищилась на 10,7 %, на 7 добу – на 50,1 %, на 14 добу – на 96,8 %, на 21 добу – на 34,9 % порівняно з аналогічними показниками у групі тварин з термічним опіком, яким корекцію не здійснювали. Активність СОД при поєднаному застосуванні препарату сурфактанту “Куросурф” та субстрату ліофілізованого ксенодермотрансплантата зростала на 3 добу на 31,4 %, на 7 добу – на 94,1 %, на 14 добу – на 81,6 % і на 21 добу спостереження – на 50,3 %. Аналогічну тенденцію до підвищення в динаміці експерименту встановлено при дослідженні концентрації ЦП у піддослідних тварин із змодельованим термічним ураженням, яке коригували шляхом використання препарату сурфактанту “Куросурф” та субстрату ліофілізованого ксенодермотрансплантата (табл.).



А



Б

Рис. Динаміка змін аналітичних маркерів ендотоксемії за умов корекції експериментальної опікової травми шляхом поєднаного застосування субстрату ліофілізованого ксенодермотрансплантата і препарату сурфактанту “Куросурф” (А – динаміка ЕІІ у групі тварин з опіковою травмою та при її корекції; Б – зміни $K_{СМП}$ у групі щурів з опіковою травмою та при її корекції).

Наведена динаміка вказує на покращення функціонування ферментативної ланки антиоксидантного захисту за умов застосованої корекції шляхом відновлення процесу синтезу ферментів, які безпосередньо беруть участь у знешкодженні вільних радикалів.

За умов застосованої корекції експериментальної опікової травми спостерігали достовірне зменшення EII у всі терміни експерименту. Встановлено також зниження $K_{\text{СМП}}$, що вказувало на виражене зменшення вмісту як ланцюгових, так і ароматичних амінокислот у складі середньомолекулярних пептидів (рис.).

ВИСНОВКИ. Експериментальна термічна травма супроводжується істотним порушенням балансу окисно-відновних реакцій у тканині легень, що характеризується посиленням утворенням і накопиченням продуктів пероксидного окиснення ліпідів та зниженням активності ферментативної ланки антиоксидантної системи в досліджуваному органі. Корекція опікової травми шляхом поєднаного застосування подрібненого субстрату ліофілізованого ксенодермотрансплантата і препарату сурфактанту "Куросурф" сприяє відновленню ефективності функціонування ферментів антиоксидантної системи, зниженню концентрації продуктів вільнорадикального окиснення та, як наслідок, зменшенню проявів ендогенної інтоксикації.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Медицина, 1972. – 252 с.
2. Волощенко К. А. Нарушение гемостаза и его коррекция у тяжелообожженных / К. А. Волощенко, Е. А. Березенко, С. Р. Акопян // *Скорая медицинская помощь.* – 2006. – 7, № 3. – С. 49–50.
3. Гіповолемічний шок – особливості діагностики та інтенсивної терапії в залежності від віку хворого : метод. рек. / [А. С. Владика, Б. А. Самура, Б. Б. Самура та ін.]. – К., 2005. – 24 с.
4. Кожем'якін Ю. М. 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.
5. Колб В. Г. Определение активности церулоплазмина в крови / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – М. : Беларусь, 1976. – 312 с.
6. 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.
7. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–18.
8. Некоторые вопросы патогенеза и патоморфологии ожогового шока / Р. В. Вашетко, В. А. Ильина, Е. А. Бородай [и др.] // *Скорая медицинская помощь.* – 2006. – 7, № 3. – С. 48–49.
9. Ожоговая интоксикация / [Г. П. Козинец, С. В. Слесаренко, А. П. Радзиховский и др.]. – К. : Феникс, 2004. – 265 с.
10. 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.
11. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун [и др.] // *Лаб. дело.* – 1988. – № 9. – С. 22–24.
12. "Средние молекулы" – образование и способы определения / В. В. Николайчик, В. В. Кирковский, В. М. Маин [и др.] // *Лаб. дело.* – 1989. – № 8. – С. 31–33.
13. 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.
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasbourg : Council of Europe, 1986. – № 123. – 52 p.
15. Myosin light chain kinasedependent microvascular hyperpermeability in thermal injury / Q. Huang, W. Xu, E. Ustinova [et al.] // *Shock.* – 2003. – 20, № 4. – P. 363–368.

ИЗМЕНЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ В ТКАНИ ЛЕГКИХ В УСЛОВИЯХ ОЖГОВОЙ ТРАВМЫ И ПРИ ЕЕ КОРРЕКЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТА И ЭКЗОГЕННОГО ПРЕПАРАТА СУРФАКТАНТА

Резюме

После экспериментальной термической травмы в организме подопытных животных на фоне активации процессов свободнорадикального окисления и снижения антиоксидантной активности и нарастания проявлений эндотоксемии возникает и развивается оксидативный стресс. Совместное применение препарата сурфактанта и субстрата лиофилизированной ксенокожи после ожогов кожи приводит к существенному снижению проявлений эндотоксемии, угнетению процессов липопероксидации и восстановлению функциональной активности антиоксидантной защиты.

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

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

CHANGES OF REDOX REACTIONS IN THE LUNG TISSUE UNDER BURN INJURY AND COMBINED APPLICATION OF LYOPHILIZED XENOGRAPHT SUBSTRATE AND EXOGENOUS SURFACTANT PREPARATION

Summary

Oxidative stress in the body of the experimental animals after burn injury arises and develops on the background of activation of free radical oxidation and decrease of antioxidant activity and increase of endotoxemia. The combined use of surfactant preparation and lyophilized xenographt substrate after skin burns lead to a significant decrease of endotoxemia, inhibition of lipid peroxidation processes and restoring functional activity of antioxidant protection.

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

Отримано 07.05.15

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