

МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ У ЩУРІВ З ГОСТРИМ УРАЖЕННЯМ ЛЕГЕНЬ

У дослідженнях на білих щурах відзначено, що при гострому ураженні легень відбувається зростання показників ендогенної інтоксикації – молекул середньої маси в бронхоальвеолярному лаважі. Встановлено достовірний обернений взаємозв'язок між молекулами середньої маси і рівнями рН та парціального тиску артеріальної крові, що свідчить про вплив гіпоксії на системні мембранодеструктивні процеси.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гостре ураження легень, бронхоальвеолярний змив, молекули середньої маси, ендогенна інтоксикація.

ВСТУП. Протягом останніх десятиліть особливу увагу в патогенезі багатьох захворювань приділяють синдрому ендогенної інтоксикації [15]. Різноманітний комплекс пошкоджувальних факторів зумовлює активацію катаболічних процесів, зниження детоксикаційної здатності організму, накопичення пептидів середньої молекулярної маси, що є проміжними продуктами протеолізу, та розвиток синдрому “метаболічної інтоксикації”, який призводить до виражених функціональних порушень та морфологічних пошкоджень різних органів і систем, що є визначальним у танатогенезі [1, 9, 19]. Особлива роль у перебізі патологічних біохімічних процесів належить молекулам середньої маси (МСМ), окремі фракції яких проявляють високу біологічну активність [4]. Спектр патологічної дії МСМ має різний характер. Вони порушують фізико-хімічні властивості клітинних мембран, пригнічують тканинне дихання та окисне фосфорилування, інгібують АТФ-азну активність і синтез ДНК, активують процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) з одночасним зниженням антиоксидантної активності, стимулюють клітинну проліферацію або її пригнічення в процесі апоптозу [8, 20]. Існує також думка про протекторні властивості МСМ [18, 20].

Важливою ланкою розвитку і прогресування гострого ураження легень (ГУЛ) є гіперпродукція перекисних сполук за умов зниження антиоксидантних резервів та, як наслідок, дисбаланс утворення і використання продуктів ПОЛ [10]. У результаті відбуваються порушення практично на всіх рівнях клітинного метаболізму, які охоплюють зміну фізико-хімічних

властивостей мембранних білків і ліпідів, порушення проникності мембран, зменшення електричної стабільності мембран, що проявляється зміною кислотно-лужної рівноваги, імунного статусу, рівня біологічно активних речовин, програмованої смерті клітин [11]. Науковці дослідили розвиток ендотоксемії за умов гострого ураження легень, що виникає при непрямому їх пошкодженні, зокрема панкреатиті, сепсисі [2, 11]. При цьому легені є однією з головних мішеней більшості відомих факторів тканинного пошкодження [9].

Механізми розвитку метаболічних порушень при ГУЛ складні, багатогранні й досі залишаються незрозумілими, особливо при наявності великої кількості етіологічних чинників даної патології. Дотепер у літературі відсутні дані щодо поглибленого дослідження показників метаболічного порушення, які лежать в основі поліорганної дисфункції при гострому аспіраційному ураженні легень, що свідчить про актуальність даного дослідження. У ряді досліджень, проведених у хворих із різними патологічними станами, було виявлено підвищення рівня МСМ як у сироватці крові, так і в інших фізіологічних рідинах – сечі, слині та ін., що наштовхнуло нас на думку дослідити рівень ендотоксемії при аспіраційному ураженні у бронхоальвеолярному змиві (БАЗ) [10, 11].

Тому метою даної роботи було вивчити характер змін ендогенної інтоксикації в бронхоальвеолярному змиві лабораторних тварин і встановити роль газового складу крові у розвитку ендотоксемії при гострому ураженні легень, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди було проведено на 30 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 200–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”. Утримання тварин та експерименти виконували відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Тварин поділили на 5 груп: 1-ша – контрольна; 2-га – ураження хлоридною кислотою тривалістю 2 год; 3-тя – ураження хлоридною кислотою тривалістю 6 год; 4-та – ураження хлоридною кислотою тривалістю 12 год; 5-та – ураження хлоридною кислотою тривалістю 24 год.

Щурів анестезували шляхом внутрішньочеревного введення їм тіопенталу натрію в дозі 40 мг/кг маси тварини. Вентральну сторону шийі обробляли хлоргексидином і робили 0,5 см серединний розріз для візуалізації трахеї. Тварин розміщували горизонтально під кутом 45°, інсуліновим шприцом вводили в трахею НСІ, рН 1,2, в дозі 1,0 мл/кг на вдиху. Щурам контрольної групи вводили фізіологічний розчин у дозі 1,0 мл/кг.

Через 2, 6, 12 та 24 год проводили евтаназію щурів методом введення тіопенталу натрію в дозі 90 мг/кг маси тварини, дотримуючись правил гуманного ставлення до тварин. Для визначення концентрації МСМ у бронхоальвеолярному змиві останній піддавали депротейнізації з використанням 10 % трихлороцтової кислоти. Потім проби центрифугували (3000 об./хв) протягом 30 хв. 0,5 мл надосаду переносили у пробірку з 4,5 мл дистильованої води, отриману рідину перемішували і переносили у вимірювальну кювету. Спектрофотометрію проводили при довжинах хвилі 254 та 280 нм проти дистильованої води. Відповідь про вміст МСМ отримували в умовних одиницях, які чисельно дорівнювали коефіцієнтам екстинції в 1 л [16].

Одержані результати статистично обробляли, обчислювали середню арифметичну варіаційного ряду (M), стандартну похибку середньої арифметичної (m) та достовірність відмінностей (p). Кореляційний аналіз проводили між усіма досліджуваними показниками. Вираховували коефіцієнт лінійної кореляції (r) та його достовірність (p), що відповідним чином позначали у таблицях (кореляційних матрицях). Коефіцієнт кореляції оцінювали як достовірний при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вираження ендотоксикозу визначали за вмістом у крові гідрофільних і гідрофобних продуктів. До гідрофільних компонентів ендогенної інтоксикації відносять МСМ, які утворюються внаслідок підвищеного протеолізу і проявляють пошкоджувальну дію на організм у зв'язку з високою функціональною активністю [12].

Як видно з таблиці, вміст молекул МСМ/254 (вміст ланцюгових амінокислот у середньомолекулярних пептидах та продуктах їх розпаду) в БАЗ щурів усіх груп спостереження збільшився. Так, через 2 год експерименту даний показник зріс на 12,67 % відносно контролю, через 6 год – на 8,97 % стосовно 2-ї дослідної групи, через 12 год – на 10,35 % відповідно до 3-ї групи, через 24 год – на 10,91 % проти даних 4-ї дослідної групи. Слід зауважити, що вказані цифрові величини статистично достовірно відрізнялись між собою ($p < 0,05$) і протягом доби рівень МСМ/254 підвищився в середньому на 50 %.

Проведені дослідження з визначення вмісту МСМ/280 (ароматичні амінокислоти) показали, що протягом 24 год спостереження їх рівень достовірно зростав у всіх групах спостереження ($p < 0,05$) і був найвищим через добу експерименту, тобто на 105,78 % стосовно контролю (табл. 1).

Порівнюючи отримані дані щодо вмісту МСМ/254 і МСМ/280, можна говорити про однонаправлені зміни середньомолекулярних

Таблиця – Динаміка вмісту МСМ (ум. од./л) у бронхоальвеолярному змиві дослідних груп тварин за умов ГУЛ (n=6)

Показник	Група тварин				
	1-ша (контроль)	2-га (2 год)	3-тя (6 год)	4-та (12 год)	5-та (24 год)
МСМ/254, ум. од./л	409,00±16,39	460,83±10,35	502,17±10,46	554,17±13,56	614,67±12,47
p	$p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{1-4} < 0,001$, $p_{1-5} < 0,001$, $p_{2-3} < 0,05$, $p_{2-4} < 0,001$, $p_{2-5} < 0,001$, $p_{3-4} < 0,05$, $p_{3-5} < 0,001$, $p_{4-5} < 0,01$				
МСМ/280, ум. од./л	245,00±11,62	365,67±14,18	416,33±11,81	464,33±10,67	481,83±16,07
p	$p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{1-4} < 0,001$, $p_{1-5} < 0,001$, $p_{2-3} < 0,05$, $p_{2-4} < 0,001$, $p_{2-5} < 0,001$, $p_{3-4} < 0,05$, $p_{3-5} < 0,001$, $p_{4-5} < 0,05$				

Примітка. p – вірогідність відмінностей між дослідними групами.

пептидів при різних довжинах хвилі, які характеризуються достовірним збільшенням протягом 24 год спостереження, що свідчить про наростання ендогенної інтоксикації.

Було проведено також порівняльний аналіз рівня ендотоксемії в БАЗ та крові щурів [13] із змодельованим ГУЛ. Виявлено, що вміст МСМ/254 і МСМ/280 у БАЗ щурів контрольної групи був достовірно вищим, ніж у крові ($p < 0,05$), що, ймовірно, пов'язано з підвищеним протеолізом у легенях під впливом факторів зовнішнього середовища (рис.) [6, 16]. В дослідних групах встановлено статистично значимішу відмінність МСМ/254 і МСМ/280 в БАЗ стосовно даних у крові, що вказує на один з факторів розвитку ГУЛ, зокрема патологічну зміну сурфактантної системи, транскапілярного обміну рідини, розвиток мембранодеструктивних процесів і, як наслідок, підвищення надходження у кровотік токсичних речовин.

Проведений корелятивний аналіз даних щодо рН крові та МСМ/254 в БАЗ показав негативний взаємозв'язок середньої сили між досліджуваними показниками, який був статистично значимим ($p < 0,05$) у 2-й ($r = -0,76$) і 3-й ($r = -0,81$) експериментальних групах. Зсув реакції середовища в кислу сторону за умови ГУЛ відбувався в результаті накопичення недоокиснених продуктів вуглеводного і ліпідного обміну. Респіраторний ацидоз, що розвинувся, сприяв лабілізації мембран лізосом, виходу в цитоплазму протеаз та протеолітичної деструкції тканини легень, у результаті чого підвищувалась інтенсивність пероксидного окиснення білків та ліпідів, що є основними чинниками ендотоксемії. З іншої сторони, накопичення в організмі ендотоксинів призводило до порушень гемодинаміки, проникності мікросудин, функції дихальних ферментів, а також до метаболічного ацидозу на фоні деструктивних пошкоджень легень [5, 20].

До провідних механізмів, що лежать в основі ендогенної інтоксикації при ГУЛ, належить розвиток гіпоксії тканини у зв'язку з порушенням транспорту кисню. Проведений корелятивний аналіз даних щодо парціального тиску кисню (pO_2) в артеріальній крові [13] та МСМ/254 в БАЗ показав негативний корелятивний зв'язок середньої сили між досліджуваними показниками, який був статистично значимим ($p < 0,05$) у 2-й ($r = -0,71$) і 3-й ($r = -0,76$) експериментальних групах. Цікавим є те, що при відносному зростанні pO_2 у 4-й групі рівень ендогенної інтоксикації продовжував зростати. Це можна пояснити тим, що за умов гіпоксії відновлення постачання легень киснем стимулює ПОЛ, зумовлюючи пошкодження клітин і провокуючи викид токсичних метаболітів, які є додатковим джерелом інтоксикації [7].

З огляду на наведені дані, ендотоксикоз займає одне з важливих місць у патогенезі ГУЛ, оскільки знижує функціональну активність регулювальних систем, ініціює процеси пероксидації, зумовлює накопичення їх дериватів, метаболітів з наступною дестабілізацією окиснювального фосфорилування, порушення функціонування клітинних мембран та розвиток поліорганної недостатності [3, 4, 14, 17] (схема).

ВИСНОВКИ. За умови гострого ураження легень, індукованого інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, відбуваються однонаправлені зміни показників ендогенної інтоксикації, зокрема МСМ/254 і МСМ/280, в крові та бронхоальвеолярному змиві, що вказує на наростання ендотоксемії. Встановлено достовірний обернений взаємозв'язок між МСМ і рівнями рН та парціального тиску артеріальної крові, що свідчить про вплив гіпоксії на системні мембранодеструктивні процеси.

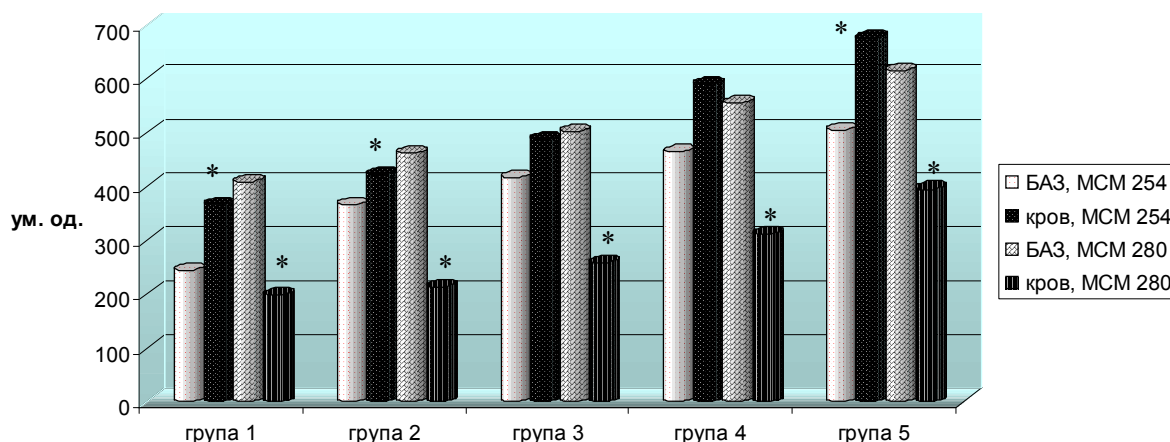


Рис. Направленість змін МСМ/254 і МСМ/280 у крові й бронхоальвеолярному змиві щурів за умови гострого ураження легень (* – достовірність різниці між показниками в крові та БАЗ у межах групи, $p < 0,05$).



Схема. Роль ендотоксикозу в патогенезі гострого ураження легень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрейчин С. М. Сучасні уявлення про метаболічну ендотоксикацію / С. М. Андрейчин, Т. О. Голомаша // Інфекційні хвороби. – 2012. – № 1 (67). – С. 84–88.
2. Бородин Е. А. Биохимия эндотоксикоза. Механизмы развития и оценка степени тяжести при воспалительных заболеваниях легких / Е. А. Бородин, Е. В. Егоршина, В. П. Самсонов. – Благовещенск, АГМА, 2003. – 129 с.
3. 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.
4. 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.
5. Дисбаланс перекисного окислення ліпидов и антиоксидантной защиты и уровень средних молекул у детей, больных хроническим гломерулонефритом / Е. А. Вельдер, Н. И. Аверьянова, В. М. Аксёнова [и др.] // Матер. науч. сессии Перм. гос. мед. академии. – Пермь, 2000. – С. 23–24.
6. Заяць Л. М. Вплив аерополітантів на ультраструктуру альвеолярних макрофагів легень / Л. М. Заяць // Вісник проблем біології і медицини. – 2003. – Вип. 3. – С. 48–49.
7. Изменения активности фосфолипазы A2 и перекисного окислення ліпидов при ендотоксикозе в условиях экспериментального перитонита / В. А. Трофимов, А. П. Власов, В. Н. Подеров [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – № 1. – С. 31–33.
8. Карякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) / Е. В. Карякина, С. В. Белова // Клини. лаб. диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3–8.
9. Кассиль В. Л. Острый респираторный дистресс-синдром в свете современных представлений / В. Л. Кассиль, Е. С. Золотокрылина // Вестник интенсивной терапии. – 2000. – № 4. – С. 3–7.
10. Копытова Т. В. Молекулы средней массы как субстрат эндогенной интоксикации при тяжелых дерматозах / Т. В. Копытова // Усп. совр. естествознания. – 2006. – № 9. – С. 7–10.
11. Лабораторная оценка тяжести аутоиммунного эндотоксикоза при беременности, осложненной гестозом / Л. А. Пестряева, Л. Н. Юрченко, Е. А. Шипицына [и др.] // Клини. лаб. диагностика. – 2000. – № 10. – С. 7.
12. Малахова М. Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме / М. Я. Малахова // Эфферентная терапия. – 2000. – № 4. – С. 3–14.
13. Марущак М. І. Зміни газового складу крові при експериментальному гострому ураженні легень у динаміці / М. І. Марущак // Здобутки клініч. і експерим. медицини. – 2011. – № 1. – С. 75–78.
14. Марущак М. І. Роль активних форм кисню у

розвитку і прогресуванні гострого ураження легень в експерименті / М. І. Марущак // Мед. хімія. – 2012. – **14**, № 1 (50). – С. 104–108.

15. Матвеев С. Б. Оценка эндогенной интоксикации по показателям среднемoleкулярных пептидов при неотложных состояниях / С. Б. Матвеев, Н. В. Федорова, М. А. Годков // Клин. лаб. диагностика. – 2009. – № 5. – С. 16–18.

16. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму : методичні рекомендації. – К., 1998. – 43 с.

17. Морфофункціональні зміни в легенях лабораторних тварин у патогенезі експериментального хронічного бронхіту токсичної та пилової етіології / М. Г. Карнаух, В. Д. Крушевський, С. П. Луговський,

М. А. Комаров // Гігієна населених місць. – 2003. – Вип. 41. – С. 53–58.

18. Никольская В. А. Влияние окислительного стресса in vitro на уровень молекул средней массы в сыворотке крови и гемолизате эритроцитов Sus Scrofa / В. А. Никольская // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2011. – № 4. – С. 123–126.

19. Павлишин Г. А. Метаболічні порушення у новонароджених з перинатальними факторами ризику / Г. А. Павлишин // Вісник СумДУ. – 2006. – № 8 (92). – С. 96–100.

20. Юдакова О. В. Интенсивность ПОЛ и АОА, уровень молекул средней массы как показателя эндогенной интоксикации при распространенном перитоните / О. В. Юдакова, Е. В. Григорьев // Клин. лаб. диагностика. – 2004. – № 10. – С. 20–22.

М. И. Марущак

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У КРЫС С ОСТРЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЛЕГКИХ

Резюме

В исследованиях на белых крысах отмечено, что при остром поражении легких происходит углубление показателей эндогенной интоксикации – молекул средней массы в бронхоальвеолярном лаваже. Установлена достоверная обратная взаимосвязь между молекулами средней массы и уровнями pH и парциального давления артериальной крови, что свидетельствует о влиянии гипоксии на системные мембрано-деструктивные процессы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острое поражение легких, бронхоальвеолярный смыв, молекулы средней массы, эндогенная интоксикация.

М. І. Marushchak

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

METABOLIC DISORDERS IN THE RATS WITH ACUTE LUNG INJURY

Summary

In experiments on white rats has been shown that at acute lung injury there are increased the indices of endogenous intoxication – medium weight molecules in the bronchoalveolar lavage. The negative correlations between medium weight molecules and levels of pH and partial pressure of arterial blood have been determined, which indicate the influence of hypoxia on systemic membrane-destructive processes.

KEY WORDS: acute lung injury, bronchoalveolar lavage, medium weight molecules, endogenous intoxication.

Отримано 16.03.12

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