

## РЕАКЦІЯ ІМУННОЇ СИСТЕМИ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГРДС ПРИ ПРОФІЛАКТИЧНОМУ ЗАСТОСУВАННІ АНТИГІПОКСАНТІВ

РЕАКЦІЯ ІМУННОЇ СИСТЕМИ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГРДС ПРИ ПРОФІЛАКТИЧНОМУ ЗАСТОСУВАННІ АНТИГІПОКСАНТІВ – У статті наведено дані експериментального комплексного дослідження профілактичного застосування мексидолу та корвітину для оцінки гуморальної ланки імунного захисту в щурів із ГРДС. В експерименті використано 120 білих щурів. Ініціацію ГРДС проведено за методикою G. Matute-Bello, Michael Matthay (2008) в модифікації А. А. Гудими (2010). Застосування мексидолу та корвітину при ГРДС у щурів призводить до достовірних змін більшості показників гуморального імунітету.

РЕАКЦИЯ ИМУННОЙ СИСТЕМЫ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОРДС ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ПРИМЕНЕНИИ АНТИГИПОКСАНТОВ – В статье приведены данные экспериментального комплексного исследования профилактического применения мексидола и корвитина для оценки гуморального иммунитета у крыс с ОРДС. В эксперименте использовано 120 белых крыс. Инициация ОРДС проведена по методике G. Matute-Bello, Michael Matthay (2008) в модификации А. А. Гудымы (2010). Применение мексидола и корвитина при ОРДС у крыс приводит к достоверным изменениям большинства показателей гуморального иммунитета.

STATE OF IMMUNE SYSTEM UNDER EXPERIMENTAL ARDS FOR PROPHYLACTIC USE OF ANTIHYPOXANTS – The article presents the results of experimental studies of complex prophylactic use Mexydol and Korvitin to assess immune system in rats with ARDS. The experiment used 120 rats. Initiation of ARDS performed by the method G. Matute-Bello, Michael Matthay, 2008 as modified Hudyma AA 2010. Application Mexydol and Korvitin with ARDS in rats leads to significant changes in most indices of immune reaction.

**Ключові слова:** ГРДС, імунна система, мексидол, корвітин.

**Ключевые слова:** ОРДС, иммунная система, мексидол, корвитин.

**Key words:** ARDS, immune system, Mexydol and Korvitin.

**ВСТУП** Гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) є гострим запальним захворюванням, що має високу захворюваність і супроводжується високою летальністю, від 15 до 72 %, найчастіше внаслідок поліорганної недостатності [1]. ГРДС має досить широкий спектр етіологічних факторів інфекційних або неінфекційних, які можуть здійснювати прямий вплив (пневмонія) або опосередкований (перитоніт) [2]. Патологіологічними ознаками ГРДС є дифузні альвеолярні пошкодження, що проявляються руйнуванням альвеолярно-капілярної мембрани, розвитком набряку легень через підвищення проникності альвеолярно-капілярного бар'єра і подальше зниження артеріальної оксигенації та розвиток гіпоксії. Набряк легень, ендотеліальні й епітеліальні травми супроводжуються припливом запальних клітин, а саме: нейтрофілів, в інтерстицій і бронхоальвеолярний простір, а також накопичення багатим білком ексудату в альвеолах [3]. У пацієнтів з ГРДС виявляють підвищені рівні запальних медіаторів, таких як TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 і IL-8 в легеневої рідини, а також у судинному руслі. Таким чи-

ном, активація та робота нейтрофілів відіграють ключову роль у прогресуванні ГРДС [4].

Важливо відзначити наявність імунних комплексів у легеневої рідини в пацієнтів з ГРДС. Аутоантитіла до декількох цитокінів, включаючи IL-8, було виявлено в плазмі крові людини та інших тканин [5, 6] при ГРДС. Попри це механізм імунної відповіді при ГРДС все ще вивчено недостатньо [7]. Оскільки лікування даної патології повинно бути комплексним, індивідуальним і патогенетично обґрунтованим, тому дослідження імунної ланки патогенезу ГРДС є актуальною проблемою, а підвищена увага до даної тематики є тільки підтвердженням цього.

Метою дослідження стало встановити особливості реакції гуморальної ланки імунного захисту в лабораторних тварин при ГРДС за динамікою змін інтегральних імунологічних показників.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Дослідження проведено на 120 статевозрілих білих щурах масою (200 $\pm$ 15) г. Для проведення експерименту використали середньостійкі до гіпоксії щури, яких відбирали за методикою В. А. Березовського [6]. Введення антигіпоксантів з профілактичною метою проводили за 1 год до ініціації ГРДС. Тваринам ГРДС моделювали за методикою G. Matute-Bello (2008) у модифікації А. А. Гудими (2010), при якій в трахею вводять 0,1 нормальну соляну кислоту в дозі 2,0 мл/кг [7].

Кожна група нараховувала 30 тварин, яких виводили з експерименту на 1 і 2 год. Про стан системи імунної відповіді судили за вмістом імуноглобулінів класів А, М, G та циркулюючих імунних комплексів [8]. Достовірність даних встановлювали за критерієм Стьюдента, а також за критеріями Левена-Брауна-Форсайта.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Через 1 год після моделювання ГРДС у сироватці крові уражених тварин, порівняно із контролем (табл. 1), істотно збільшувався вміст ЦІК (у 3,3 раза,  $p < 0,001$ ) та Ig G (у 3,0 раза,  $p < 0,001$ ). Через 2 год показники ЦІК та Ig G перебували на такому ж рівні, проте істотно підвищувався вміст у сироватці крові Ig M. Порівняно із першою годиною спостереження, цей показник збільшився на 64,2 % ( $p < 0,01$ ), що стало достовірно більшим, ніж у контролі (на 80,8 %,  $p < 0,001$ ).

В умовах досліджуваних методів корекції (табл. 2) після мексидолу та комбінації препаратів вміст ЦІК у сироватці крові на першу годину виявився істотно меншим, ніж у некорегованих тварин (відповідно на 43,4 %,  $p < 0,001$  та 43,0 %,  $p < 0,001$ ). Разом з тим, після застосування корвітину досліджуваний показник на 38,0 % ставав більшим, ніж у тварин з ГРДС ( $p < 0,05$ ), і достовірно перевищував аналогічні показники груп, в яких застосовували мексидол та комбінацію препаратів.

На другу годину після застосування мексидолу, порівняно із першою, вміст ЦІК у сироватці крові знизився (на 9,8 %,  $p < 0,001$ ), після корвітину – практично не змінився, після комбінації препаратів – підви-

Таблиця 1. Показники імунологічної 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 |
| Ig A, г·л <sup>-1</sup> | 1 год | 0,435±0,018    | 0,522±0,106   | >0,05  |
|                         | 2 год |                | 0,487±0,043   | >0,05  |
| Ig M, г·л <sup>-1</sup> | 1 год | 0,832±0,020    | 0,916±0,186   | >0,05  |
|                         | 2 год |                | 1,504±0,026** | <0,001 |
| Ig G, г·л <sup>-1</sup> | 1 год | 1,188±0,023    | 3,560±0,353   | <0,001 |
|                         | 2 год |                | 3,567±0,138   | <0,001 |

Примітки: 1) \* – достовірність відмінностей у групах між показниками на 1 і 2 год (\* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001);  
2) n – у чисельнику кількість тварин, які вижили на 1 год експерименту, в знаменнику – на 2 год.

Таблиця 2. Показники імунологічної резистентності через 1 і 2 год після моделювання гострого респіраторного дистрес-синдрому, корегованого різними методами (M±m)

| Показник                |       | ГРДС (n=8/5)  | ГРДС +мексидол (n=12/8) | ГРДС +корвітин (n=9/6)                  | ГРДС+ комбінація преп. (n=14/11)                                  |
|-------------------------|-------|---------------|-------------------------|---|---|
| ЦІК, ум. од.            | 1 год | 203,8±6,1     | 115,3±1,5***            | 281,3±26,7#<br>p <sub>1</sub> <0,001    | 116,1±1,5***<br>p <sub>1</sub> <0,001<br>p <sub>2</sub> <0,001    |
|                         | 2 год | 211,6±6,0     | 104,0±1,2****           | 291,8±35,6#<br>p <sub>1</sub> <0,001    | 146,0±2,3****<br>p <sub>1</sub> <0,001<br>p <sub>2</sub> <0,01    |
| Ig A, г·л <sup>-1</sup> | 1 год | 0,522±0,106   | 0,954±0,012**           | 1,270±0,177***<br>p <sub>1</sub> <0,10  | 0,959±0,012***<br>p <sub>1</sub> >0,05<br>p <sub>2</sub> >0,05    |
|                         | 2 год | 0,487±0,043   | 0,901±0,010****         | 1,025±0,094***<br>p <sub>1</sub> >0,05  | 1,207±0,018****<br>p <sub>1</sub> <0,001<br>p <sub>2</sub> <0,10  |
| Ig M, г·л <sup>-1</sup> | 1 год | 0,916±0,186   | 1,142±0,014             | 3,478±0,808**<br>p <sub>1</sub> <0,05   | 1,148±0,014<br>p <sub>1</sub> >0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05       |
|                         | 2 год | 1,504±0,026** | 1,130±0,012***          | 3,222±0,206***<br>p <sub>1</sub> <0,001 | 2,254±0,034****<br>p <sub>1</sub> <0,001<br>p <sub>2</sub> <0,001 |
| Ig G, г·л <sup>-1</sup> | 1 год | 3,560±0,353   | 2,373±0,031**           | 5,723±1,134<br>p <sub>1</sub> <0,05     | 2,380±0,031**<br>p <sub>1</sub> >0,05<br>p <sub>2</sub> <0,05     |
|                         | 2 год | 3,567±0,138   | 2,239±0,026****         | 7,022±0,282***<br>p <sub>1</sub> <0,001 | 4,198±0,064****<br>p <sub>1</sub> <0,001<br>p <sub>2</sub> <0,001 |

Примітки: 1) значками # позначено достовірність відмінностей стосовно групи тварин із ГРДС (# – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001);  
2) p<sub>1</sub> – достовірність відмінностей стосовно групи тварин з ГРДС, які отримували з корегувальною метою мексидол;  
3) p<sub>2</sub> – достовірність відмінностей стосовно групи тварин з ГРДС, які отримували з корегувальною метою корвітину.

щився на 25,8 % (p<0,001). Незважаючи на це, вміст ЦІК у сироватці крові на тлі введення мексидолу та комбінації препаратів залишався меншим, ніж у некорегованих тварин, а на тлі введення корвітину, навпаки, – більшим.

Концентрація Ig A після усіх запропонованих методів корекції на першу годину збільшувалася і статистично достовірно перевищувала аналогічний показник тварин із ГРДС.

На другу годину вміст у сироватці крові Ig A на тлі корекції мексидолом та комбінацією препаратів збільшувався, тоді як у некорегованих тварин та після введення корвітину практично не змінювався. Максимальне підвищення цього показника спостерігали після застосування комбінації препаратів.

Вміст у сироватці крові Ig M на першу годину зростав тільки після застосування корвітину (в 3,8 раза,

p<0,01), що виявилось також достовірно більшим, ніж після введення мексидолу та комбінації препаратів.

На другу годину відмічалось істотне підвищення вмісту Ig M у сироватці крові після введення комбінації препаратів (на 96,3 %, p<0,001) порівняно з першою годиною спостереження. Враховуючи, що даний показник суттєво збільшився й у групі нелікованих тварин, після застосування мексидолу рівень Ig M у сироватці крові виявився достовірно нижчим (на 24,9 %, p<0,001), після застосування корвітину продовжував залишатися істотно вищим (більше ніж у 2 рази, p<0,001) і також збільшився після введення комбінації препаратів (на 49,9 %, p<0,001).

Вміст у сироватці крові Ig G на першу годину виявився достовірно нижчим від рівня некорегованих тварин тільки після введення мексидолу та комбінації препаратів (на 33,3 і 33,1 %, p<0,01). На другу годину

після застосування мексидолу вміст у сироватці крові Ig G знижувався (на 5,6 %,  $p < 0,01$  порівняно із першою годиною), після корвітину – практично не змінювався, після комбінації препаратів – зростав (на 76,4 %,  $p < 0,001$ ). Внаслідок цього, порівняно із групою некорегованих тварин, вміст у сироватці крові Ig G залишався нижчим на 37,2 % ( $p < 0,01$ ) після введення мексидолу та суттєво збільшувався після введення корвітину (на 96,8 %,  $p < 0,001$ ) та комбінації препаратів (на 17,7 %,  $p < 0,001$ ).

Дослідження показали, що вже на першу годину після моделювання ГРДС у сироватці крові збільшувався вміст ЦІК, який залишався підвищеним й на другу годину. Вміст Ig A практично не зазнавав змін в усі терміни спостереження. Вміст Ig M на першу годину не відрізнявся від контролю, на другу – статистично достовірно зростав. Водночас, вміст Ig G як на першу, так і на другу годину був більш ніж утричі вищим.

Одержані дані свідчать про те, що в динаміці ГРДС, очевидно, настає суттєве пошкодження імункомпетентних клітин, зокрема плазмоцитів, яке супроводжується вивільненням імуноглобулінів й, відповідно, утворенням ЦІК. Дане припущення має місце ще й з таких міркувань. По-перше, синтез імуноглобулінів, зокрема M та G, триває значний проміжок часу, тому їх поява у кровоносному руслі не може бути пов'язана із стимульованим синтезом. По-друге, легені вміщують фактично близько половини об'єму циркулюючої крові та є місцем розвитку патологічного процесу. В них безпосередньо відбуваються деструктивні явища, пов'язані із дією соляної кислоти, які, очевидно, не можуть не торкнутися й клітин крові. Оскільки частка Ig G складає приблизно 70–80 % всіх сироваткових імуноглобулінів, не є дивною їх поява на першу годину після ураження соляною кислотою. На другу годину відмічається збільшення вмісту Ig M, частка якого серед сироваткових імуноглобулінів становить 5–10 %. Це означає, що ступінь деструкції імункомпетентних клітин крові у легеневій тканині і, ймовірно, поза легенями, у зв'язку із розвитком системної реакції на запалення, наростає. Виявлений нами феномен, очевидно, є одним із патогенетичних ме-

ханізмів розвитку вторинного імунодефіциту на тлі ГРДС.

**ВИСНОВКИ** 1. У патогенезі ГРДС значне місце посідає розвиток імунологічних реакцій, що супроводжується вже з першої години, суттєвим підвищенням вмісту в сироватці крові ЦІК та Ig G. З другої години після моделювання ГРДС збільшується також вміст у сироватці крові Ig M.

2. В умовах корекції мексидол та комбінація препаратів зумовлюють менший рівень ЦІК, Ig A і G, ніж у некорегованих тварин, тоді як корвітин сприяє вищому рівневі цих показників, особливо на другу годину. На тлі використання усіх методів корекції вміст ЦІК та досліджуваних імуноглобулінів істотно перевищує рівень контрольних тварин.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Massimo Zambon. Mortality Rates for Patients With Acute Lung Injury / Massimo Zambon, Jean-Louis Vincent // *Chest* . – 2008. – № 5. – P. 1120–1127.
2. Rapid induction of autoantibodies during ARDS and septic shock / P. Burbelo, N. Seam, S. Groot [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2010. – № 8. – P. 97.
3. Zhou X. Neutrophils in acute lung injury / X. Zhou, Q. Dai, X. Huang // *Front Biosci.* – 2012. – № 17. – P. 2278–2283.
4. Grommes J. Contribution of Neutrophils to Acute Lung Injury / J. Grommes, O. Soehnlein // *Mol Med.* – 2011. – № 3–4. – P. 293–307.
5. Anti-interleukin 8 autoantibody: interleukin 8 immune complexes visualized by laser confocal microscopy in injured lung / T. Allen, R. Fudala, S. Nash, A. Kurdowska // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2007. – № 3. – P. 452–456.
6. Anti-interleukin-8 autoantibody: interleukin-8 immune complexes in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome / R. Fudala, A. Krupa, D. Stankowska [et al.] // *Clin Sci.* – 2008. – № 6. – P. 403–412.
7. High levels of circulating leukocyte microparticles are associated with better outcome in acute respiratory distress syndrome / Christophe Guerville, Romaric Lacroix, Jean-Marie Forel [et al.] // *Crit Care.* – 2011. – № 1. – P. 31.
8. Добродіній А. В. Стан перекисного окислення ліпідів, антиоксидантної системи, гуморальної ланки імунного захисту та ендогенної інтоксикації на тлі експериментального гострого респіраторного дистрес-синдрому у щурів / А. В. Добродіній // *Вісн. наук. досліджень.* – 2011. – № 3. – С. 99–101

Отримано 07.05.13