ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Klinichna khirurgiia. 2018 May;85(5):59–62.
DOI: 10.26779/2522-1396.2018.05.59
УДК 616.8–009.614:616–036.8–089.5:616–092.9

Роль кисневого дисбалансу в механізмах порушень процесів ліпідної пероксидації, антиоксидантного захисту та ендотоксикозу за умов експериментального гострого респіраторного дистрес-синдрому та їх корекція

А. В. Добродорний

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

The role of the oxygen misbalance in the disorders mechanisms of the lipidic peroxidation processes, antioxidant defense and endotoxycosis in conditions of experimental acute respiratory distress–syndrome and their correction

A. V. Dobrorodniy

Gorbachevskyi Ternopil State Medical University

Реферат

Мета. З'ясувати роль кисневого дисбалансу в механізмах порушень процесів ліпідної пероксидації, антиоксидантного захисту та ендотоксикозу за умов експериментального гострого респіраторного дистрес-синдрому (ГРДС) та встановити ефективність їх корекції корвітином і мексидолом.

Матеріали і методи. В експериментах на 58 нелінійних середньостійких до гіпоксії статевозрілих щурах-самцях моделювали ГРДС та досліджували ефективність профілактичного застосування мексидолу, корвітину та їх поєднання.

Результати. Через 2 год експерименту виникав виражений кисневий дисбаланс зі зниженням в артеріальній крові напруження кисню (pO_2), насичення киснем (SAT) та його вмісту (O_2CT). Загибло 58,3% піддослідних тварин. Ефективність окремого застосування мексидолу була достовірно вища, ніж корвітину. У разі поєднаного застосування мексидолу та корвітину загинуло 8,3% піддослідних тварин.

Висновки. Після застосування комбінації мексидолу та корвітину найменшими були порушення pO_2 в артеріальній крові, прояви ендотоксикозу та кількість загиблих тварин.

Ключові слова: гострий респіраторний дистрес-синдром; ліпідна пероксидація; ендотоксикоз; мексидол; корвітин.

Abstract

Objective. To assess the role of the oxygen misbalance in mechanisms of disorders of the lipidic peroxidation processes, antioxidant defense and endotoxycosis in conditions of experimental acute respiratory distress syndrome (ARDS), and to determine efficacy of their correction, using corvite and mexidol.

Materials and methods. In experiment on 58 nonlinear medium-resistant towards hypoxia adult male rats the ARDS was simulated, and efficacy of prophylactic application of mexidol, corvite and their combination was investigated.

Results. In 2 years of the experiment conduction a pronounced oxygen misbalance have had occurred with lowering of the oxygen pressure in arterial blood (pO_2), the oxygen saturation (SAT) and its content (O_2CT). Among experimental animals 58.3% died. Efficacy of independent application of mexidol was trustworthy higher, than in corvite. While combined application of mexidol with corvite 8.3% of experimental animals died.

Conclusion. After application of combination of mexidol and corvite the pO_2 disorders in arterial blood, signs of endotoxycosis and quantity of animals died were the least.

Keywords: acute respiratory distress–syndrome; lipidic peroxydation; endotoxycosis; mexidol; corvite.

Актуальною проблемою сучасної медицини є ГРДС, який супроводжується розвитком тяжкої дихальної недостатності і виникає у хворих хірургічного, травматологічного, терапевтичного, акушерського профілю та зазвичай потребує лікування у відділенні інтенсивної терапії [1].

За даними різних авторів ГРДС діагностують у 150 тис. – 3,5 млн. хворих на рік, летальність при цій патології ста-

новить 30 – 65%. Факторами ризику летальності є сепсис, поліорганна недостатність та похилий вік [2].

У розвитку ГРДС основну роль відіграє пошкодження альвеоло-капілярної мембрани, що супроводжується підвищенням її проникності і, як наслідок, наповненням альвеолярного простору рідиною, багатою на білки [3]. Це призводить до значного порушення дифузії газів че-

рез альвеолярну мембрану з розвитком гіпоксемії, яка негативно відбивається на тканинах й органах і замикає патологічне «хибне» коло, стимулюючи розвиток поліорганної недостатності [4].

В основі патогенного впливу кисневого дисбалансу лежить стимуляція процесів ліпідної пероксидації [5]. На тлі виснаження антиоксидантного захисту настає порушення мембранозалежних метаболічних процесів, активується імунна система, розвивається синдром ендогенної інтоксикації. Однак роль кисневого дисбалансу в проявах порушень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), антиоксидантного захисту та ендотоксикозу за умов ГРДС вивчена недостатньо. Немає переконливих даних щодо ефективності в цих умовах препаратів з антиоксидантними властивостями корвітину і мексидолу, які з успіхом використовують у схемах лікування багатьох захворювань [6, 7].

Мета дослідження: з'ясувати роль кисневого дисбалансу в механізмах порушень процесів ліпідної пероксидації, антиоксидантного захисту та розвитку ендотоксикозу за умов експериментального ГРДС та встановити ефективність їх корекції корвітином і мексидолом.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальні дослідження проведені на 58 нелінійних середньостійких до гіпоксії білих статевозрілих щурах–самцях віком 6 – 8 міс, масою тіла від 220 до 280 г, яких утримували в одному приміщенні при постійній температурі повітря 18 – 22 °C на стандартному раціоні віварію. Оцінювали стійкість щурів до гострої гіпоксії за методикою В. Я. Березовського (1978) [8]. Усіх тварин розподілили на п'ять груп: чотири дослідних (по 12 тварин у групі) і одну контрольну (10 тварин). Тваринам дослідних груп моделювали ГРДС за методикою G. Matute–Bello (2008) в авторській модифікації [9, 10]: після тіопентало–натрієвого наркозу (40 мг/кг⁻¹ внутрішньочеревно) виконували цервікотомію довжиною 1,5 – 2 см, знаходили трахею і на вдиху вводили в неї 0,1 Н розчин хлоридної кислоти з розрахунку 2 мл/кг⁻¹. Контрольним тваринам у трахею вводили еквівалентний об'єм фізіологічного розчину.

Для корекції гіпоксичних розладів застосували блокатор 5–ліпооксигенази кверцетин в ін'єкційній формі – препарат корвітин (виробник – Борщагівський хіміко–фармацевтичний завод, Україна) та етилметилгідроксипіридину сукцинат в ін'єкційній формі – препарат мексидол (виробник – «Фармасофт», Росія). Препарати вводили за 1 год до моделювання ГРДС. Корвітин розводили у 0,9% розчині натрію хлориду і застосовували в дозі 10 мг/кг внутрішньочеревно. Мексидол розводили в дистильованій воді і застосовували в дозі 1 мг/кг⁻¹ внутрішньочеревно [11]. В окремій дослідній групі поєднували обидва препарати. Тваринам з ГРДС без корекції внутрішньочеревно вводили еквівалентний об'єм фізіологічного розчину.

Через 2 год розвитку досліджуваної патології в умовах тіопентало–натрієвого знеболювання (40 мг/кг⁻¹) у тварин через діафрагму забирали артеріальну кров, яку протягом перших 20 хв досліджували на аналізаторі «ЭЦ–60Э» (ТОВ «Кверти–Мед», Росія). В артеріальній крові встановлювали показники рО₂, SAT та О₂СТ.

Далі тварин виводили з експерименту шляхом тотального кровопускання з серця. В сироватці крові встановлювали вміст реагентів до тіобарбітурової кислоти (ТБК–активних продуктів ПОЛ), які свідчать про інтенсифікацію процесів ліпідної пероксидації. Для оцінки антиоксидантного захисту визначали активність супероксиддисмутази (СОД). Про рівень ендогенної інтоксикації судили за вмістом імунотоксинів – циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та фракції молекул середньої маси, визначеної при 280 нм (МСМ₂₈₀), яка свідчить про значні метаболічні порушення з утворенням ароматичних амінокислот [12].

Статистичний аналіз отриманих цифрових даних проводили у відділі системних статистичних досліджень Університету з використанням непараметричного критерію Манна–Уїтні у програмному пакеті Statistica 10.0 («StatSoft, Inc.», США).

Експерименти з лабораторними тваринами проводили з дотриманням міжнародних вимог про гуманне поводження з тваринами відповідно до норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (European Convention, 1986), методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України «Доклінічні дослідження лікарських засобів», а також висновку комісії з питань біоетики Університету (протокол засідання № 5 від 10.05.2011 р.).

Результати

Через 2 год після моделювання ГРДС у дослідній групі без корекції загинуло 58,3% піддослідних тварин (див. таблицю). У тварин, що вижили, порівняно з контрольною групою, у крові рівень рО₂ знизився на 59,0% (p < 0,05), SAT – на 37,1% (p < 0,05), О₂СТ – на 41,9% (p < 0,05), що свідчило про виражений кисневий дисбаланс на тлі моделюваного ГРДС. За цих умов у сироватці крові у 5,63 рази збільшувався вміст ТБК–активних продуктів ПОЛ (p < 0,05), практично не змінювалася активність СОД (p > 0,05), тобто залишались високі компенсаторні можливості організму, здатні утримувати активність фермента на рівні контрольної групи, що, однак, є недостатнім у зв'язку зі значним збільшенням вмісту вторинних продуктів ПОЛ. Двогодинний ГРДС супроводжувався також збільшенням у 3,38 рази у сироватці крові ЦІК порівняно з контролем (p < 0,05), що свідчило про деструктивні процеси в легенях та значну активацію імунної системи. Також були виражені метаболічні порушення, на що вказувало збільшення у 2,08 рази в сироватці крові вмісту МСМ₂₈₀ (p < 0,05).

На тлі профілактичного застосування мексидолу спостерігали суттєво менший кисневий дисбаланс. Показник рО₂ був на рівні 9,03 ± 0,07 кПа (67,74 ± 0,55) мм рт. ст., що статистично вірогідно перевищувало цей показник у тварин з ГРДС без корекції – на 82,1% (p < 0,05). Так само вищими були й показники SAT – на 48,7% (p < 0,05) і О₂СТ – на 57,3% (p < 0,05), які досягали рівня контрольної групи (p > 0,05). Загиноюло 33,3% тварин.

Позитивними були зрушення й щодо інших досліджуваних показників. Вміст у сироватці крові ТБК–активних продуктів ПОЛ був меншим на 39,9% (p < 0,05) порівняно з відповідним показником у тварин з ГРДС без ко-

Показники кисневого гомеостазу, процесів ліпідної пероксидації, антиоксидантного захисту та ендогенної інтоксикації у щурів через 2 год після моделювання ГРДС, коригованого різними методами ($x \pm m$)

Показник	Групи тварин				
	контрольна (n=10)	ГРДС без корекції (n=5)	ГРДС і корекція мексидолом (n=8)	ГРДС і корекція корвітином (n=6)	ГРДС і корекція мексидолом та корвітином (n=11)
pO ₂ , кПа (мм рт. ст.)	12,10±0,33 (90,79±2,49)	4,95±0,19* (37,20±1,46)*	9,03±0,07* ^Δ (67,74±0,55)* ^Δ	7,96±0,17* ^Δ (59,73±1,34)* ^Δ p ₁ < 0,05	9,71±0,10* ^Δ (72,84±0,81)* ^Δ p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,05
SAT, %	95,53±0,71	60,05±2,18*	89,27±1,24* ^Δ	81,40±1,58* ^Δ p ₁ < 0,05	90,61±0,81* ^Δ p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,05
O ₂ CT, об. %	20,10±0,34	11,68±0,53*	18,36±0,90 ^Δ	17,18±0,26* ^Δ p ₁ > 0,05	18,84±0,52 ^Δ p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,05
ТБК-активні продукти, мкмоль/л ⁻¹	1,80±0,06	10,14±0,83*	6,09±0,07* ^Δ	6,88±0,11* ^Δ p ₁ < 0,05	6,79±0,02* ^Δ p ₁ < 0,05 p ₂ > 0,05
СОД, у. о./мг ⁻¹	0,695±0,020	0,701±0,064	0,508±0,014* ^Δ	0,614±0,014* p ₁ < 0,05	0,561±0,008* ^Δ p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,05
ЦІК, у. о.	62,5±1,9	211,6±6,0*	104,0±1,2* ^Δ	291,8±35,6* ^Δ p ₁ < 0,05	146,0±2,3* ^Δ p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,05
MCM ₂₈₀ , у. о.	0,379±0,034	0,787±0,031*	0,530±0,006* ^Δ	0,567±0,033* ^Δ p ₁ > 0,05	0,435±0,006* ^Δ p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,05
Примітка.	* – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні (p < 0,05); ^Δ – відмінності стосовно групи тварин з ГРДС без корекції статистично вірогідні (p < 0,05); p ₁ – вірогідність відмінностей стосовно групи тварин з ГРДС, що отримували з коригувальною метою мексидол; p ₂ – вірогідність відмінностей стосовно групи тварин з ГРДС, що отримували з коригувальною метою корвітин.				

рекції, ЦІК – 50,9% (p < 0,05), MCM₂₈₀ – на 32,6% (p < 0,05). Водночас у сироватці крові знижувалась активність СОД на 27,5% (p < 0,05). Отже, мексидол мав виражений профілактичний вплив на порушення кисневого дисбалансу, інтенсивність ПОЛ та прояви ендотоксикозу. Що стосується зниження активності СОД, то можна припустити, що препарат сприяє більш інтенсивному залученню фермента до утилізації активних форм кисню з виснаженням його активності, сприяючи сповільненню процесів ліпопероксидації. Разом з тим слід пам'ятати, що СОД – це внутрішньоклітинний фермент, зниження активності якого у крові може свідчити про зменшення інтенсивності процесів цитолізу.

Застосування у тварин корвітину теж мало позитивний ефект порівняно з тваринами, яким корекції не проводили. За показниками O₂CT і MCM₂₈₀ він був ідентичним з ефектом мексидолу, а за величинами pO₂, SAT, вмістом ТБК-активних продуктів ПОЛ – меншим. Активність СОД сироватки крові була такою ж, як і у тварин без корекції, а вміст ЦІК був суттєво більшим – на 37,9% порівняно з тваринами без корекції (p < 0,05) та у 2,8 разу порівняно з тваринами, що отримували мексидол (p < 0,05). Такі результати, очевидно, пов'язані з імуномодулювальною дією корвітину, на тлі якої посилюється утворення імуноглобулінів і відповідно ЦІК. Загинуло 50,0% тварин.

У разі поєднаного застосування мексидолу і корвітину виявили найменше порушення величини pO₂, яка на 95,8% перевищувала відповідний показник у тварин без корекції

(p < 0,05) і була статистично вірогідно більша, ніж у групах тварин, які отримували окремо мексидол і корвітин (p < 0,05). За величинами SAT і O₂CT ефективність поєднаної терапії відповідала ефективності окремого застосування мексидолу (p₁ > 0,05) і була вищою, ніж після окремого застосування корвітину (p₂ < 0,05).

У тварин після поєднаного застосування досліджуваних препаратів порівняно з тваринами без корекції на 33,0% (p < 0,05) зменшувався вміст у сироватці крові ТБК-активних продуктів ПОЛ. Ефект був таким самим, як після застосування корвітину (p₂ > 0,05), проте гіршим, ніж після застосування мексидолу (p₁ < 0,05). Також знижувалися активність СОД та вміст ЦІК (p < 0,05). Ефективність поєднаного введення препаратів була вищою, ніж після застосування корвітину (p₂ < 0,05), проте нижчою, ніж після застосування мексидолу (p₁ < 0,05). Поєднання мексидолу з корвітином супроводжувалось найнижчим вмістом у сироватці крові фракції MCM₂₈₀. Порівняно з тваринами без корекції цей показник був меншим на 55,3% (p < 0,05), з тваринами, які отримували мексидол, – на 17,9% (p₁ < 0,05), корвітин – на 23,4% (p₂ < 0,05). Загинуло 8,3% тварин, що було статистично вірогідно меншим порівняно з групою тварин без корекції і групою тварин, які отримували окремо корвітин (p < 0,05).

Обговорення

Отже, величина pO₂ і вміст фракції MCM₂₈₀ вказують на сумарно фармакологічний ефект мексидолу і корвітину,

величини SAT і O_2 CT – на те, що ефективність поєднаного застосування мексидолу і корвітину відповідає ефективності застосування самого мексидолу, вміст у сироватці крові ТБК–активних продуктів ПОЛ – ефективність поєднаного застосування мексидолу і корвітину відповідає ефективності застосування самого корвітину, активність СОД і вміст ЦІК у сироватці крові – ефективність поєднаного застосування мексидолу і корвітину вища, ніж самого корвітину, проте нижча, ніж самого мексидолу.

Отримані результати підтверджують позитивний вплив поєднаного профілактичного застосування мексидолу і корвітину за умов експериментального ГРДС. Виражений профілактичний вплив мексидолу і корвітину спостерігали за рівнем PO_2 в артеріальній крові та зменшенням метаболічних порушень з утворенням ароматичних амінокислот, які ідентифікують за вмістом у сироватці крові фракції МСМ₂₈₀. Виявлені нами інші неоднозначні ефекти поєднаного застосування цих препаратів зумовлені специфікою їх взаємодії, що потребує подальшого вивчення.

Висновки

1. Моделювання ГРДС шляхом інтратрахеального введення 0,1 Н розчину хлоридної кислоти з розрахунку 2 мл/кг⁻¹ через 2 год супроводжується вираженим кисневим дисбалансом зі зниженням рівня PO_2 у крові, SAT і O_2 CT. На цьому тлі у сироватці крові істотно зростає вміст вторинних продуктів ПОЛ, ЦІК, фракції МСМ₂₈₀, що призводить до загибелі 58,3% піддослідних тварин.

2. Застосування з профілактичною метою мексидолу, корвітину та їх поєднання істотно знижує порушення кисневого дисбалансу, інтенсивність процесів ліпідної пероксидації та проявів ендогенної інтоксикації порівняно з тваринами без корекції. Ефективність окремого застосування мексидолу вірогідно більша, ніж корвітину. Поєднане застосування мексидолу і корвітину супроводжується найменшими порушеннями величини PO_2 в артеріальній крові та проявами ендотоксикозу. За цих умов загинуло 8,3% піддослідних тварин, що вірогідно менше порівняно з тваринами, яким корекції не проводили, та після застосування самого корвітину.

References

1. Mac Sweeney R, McAuley D, Matthay M. Acute lung failure. *Semin Respir Crit Care Med* 2011; 32(5): 607–25.
2. Murtha LA, Schuliga MJ, Mabotuwana NS, Hardy SA, Waters DW, Burgess JK, et al. The processes and mechanisms of cardiac and pulmonary fibrosis. *Front Physiol*. 2017 Oct 12;8:777.
3. Su CF, Kao SJ, Chen HI. Acute respiratory distress syndrome and lung injury: Pathogenetic mechanism and therapeutic implication. *World J Crit Care Med*. 2012 Apr 4;1(2):50–60.
4. Matthay MA, Zemans RL. The acute respiratory distress syndrome: pathogenesis and treatment. *Annu Rev Pathol*. 2011;6:147–63.
5. Hryshchuk LA, Marushchak MI. Dynamika perekysnoho okysnennia lipidiv ta antyoksydantnoho zachystu v shchuriv za umov hostroho urazhennia lehen. *Tuberkuloz, lehenevi khvoroby, VIL–infektsiia*. 2011;2(05):16–20. [in Ukrainian].
6. Mokhort MA, Danova IV, Myslyvets SO. Farmakodynamika kvartsetynu ta yoho likarskykh form. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*. 2009;6:3–7. [in Ukrainian].
7. Iasnetcov VV. Issledovanie protivogipoksicheskikh i antiannesticheskikh svoistv meksidola i semaksa. *Ekspierimentalnaia i klinicheskaia farmakologiya*. 2010;73(4):2–7. [in Russian].
8. Berezovskii VA. Gipoksiia i individualnye osobennosti reaktivnosti. Kyiv: Naukova Dumka; 1978;216 s. [in Russian].
9. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008 Sep;295(3):L379–99. doi: 10.1152/ajplung.00010.2008
10. Hudyma AA, Marushchak MI, Habor HH, Datsko TV, Dobrorodnyi AV. HCl-indukovanyi hostryi respiratornyi dystres-syndrom. *Zdobutky klin. ta ekspierym. medytyny*. 2010;2:39–42. [in Ukrainian].
11. Seong-Jong Kim, Kyung-Hwa Kim, Shang-Jin Kim, Hyung-Sub Kang, Jin-Shang Kim, Min-Ho Kim, et al. Effectiveness of antioxidant and membrane oxygenator in acute respiratory distress syndrome by endotoxin. *Korean J. Chem Eng*. 2012;29:1597. doi: <https://doi.org/10.1007/s11814-012-0042-z>
12. Pyndus V, Pyndus T. Content of middle mass molecules and erythrocyte intoxication index in blood while experimental allergic alveolitis under adrenalin myocardial injury and correction of the injury by thiotriazoline. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015;5(2):319–25. [in Ukrainian].