

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

З.М. НЕБЕСНА, К.С. ВОЛКОВ, Н.Е. ЛИСНИЧУК, И.Я. ДЕМКИВ

Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского,
Украина, г. Тернополь

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ТЕРМИК ЖАРОХАТДАН СЎНГ ДИНАМИКАДА ЎПКА ТЎҚИМАСИДА
ОКСИДАТИВ СТРЕСС ЖАРАЁНЛАРИ КОРРЕКЦИЯСИ УЧУН ЎРИНБОСАР
СУРФАКТАНТ ТЕРАПИЯНИНГ АФЗАЛЛИГИ**

З.М. НЕБЕСНА, К.С. ВОЛКОВ, Н.Е. ЛИСНИЧУК, И.Я. ДЕМКИВ

И.Я. Горбачевский номидаги Тернополь Давлат медицина университети, Украина, Тернополь

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

Z.M. NEBESNA, K.S. VOLKOV, N.Ye. LISNYCHUK, I.Ya. DEMKIV

Ternopil State Medical University, Ukraine, Ternopil

Куйиш травмасида антиоксидант ҳимоя ферментлар фаоллигининг пасайиши ва эндотоксемиянинг ривожланиши фонида эркин радикал жараёнларнинг фаоллашиши натижасида ўпка тўқимасида мураккаб структурали ва метаболик ўзгаришлар рўй беради. Тажрибадаги ҳайвонларда термик травмани сурфактант воситаси билан коррекцияси натижасида эркин радикал жараёнлар фаоллигининг пасайишига ва қон ҳамда ўпка тўқимасида антиоксидант ферментлар фаоллигининг ошишига сабабчи бўлади. Шунингдек, прооксидант-антиоксидант мувозанат тикланишига сабабчи бўлади ва бунинг натижасида эндоген интоксикация белгилари камаяди.

Калит сўзлар: *термик травма, ўпка, сурфактант, эндоген интоксикация, антиоксидант тизим.*

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.*

Вступление. Оксидативный стресс играет важную роль в патогенезе многих заболеваний дыхательной системы [2]. Одними из факторов, которые инициируют оксидативный стресс, являются активные формы кислорода (АФК), которые продуцируются в процессе фагоцитоза полиморфноядерными лейкоцитами. Нарушения продукции фагоцитами метаболитов кислорода относятся к причинам развития и неблагоприятного течения заболеваний органов дыхания. В очаге легочного воспаления накапливается продукт частичного восстановления кислорода – супероксид-анион. Он и NO* подвергаются быстрому радикал-радикальному взаимодействию с образованием медиатора окислительного клеточного повреждения – пероксинитрита. Последний вызывает повреждение белков, липидов клеточных мембран и сосудистого эндотелия, увеличивает агрегацию тромбоцитов, принимает участие в процессах развития эндотоксе-

мии. Свободные радикалы вызывают токсические повреждения дыхательных путей, усиливают воспаление [3].

Защиту от повреждающего влияния АФК обеспечивают антиоксидантные ферменты: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, ферменты редокс-системы глутатиона. В норме оксиданты-антиоксиданты находятся в равновесии. Нарушение этого баланса в сторону оксидантов вызывает развитие оксидативного стресса.

Поскольку эндотоксикоз и тканевая гипоксия являются одними из постоянных патогенетических звеньев метаболических нарушений в системе гомеостаза, а также играют роль пусковых механизмов в развитии повреждения легких у больных с термическим ожогом, поиск путей коррекции указанных изменений является достаточно актуальным.

Патогенез развития респираторных осложнений, которые возникают на фоне ожого-

вой травмы, разрешает рассматривать повреждение легких, преимущественно, как “сурфактант-зависимый” процесс [9]. Это является основой для включения в комплекс лечебных мероприятий при заболеваниях системы дыхания заместительной сурфактантной терапии с использованием экзогенных сурфактантов.

Учитывая вышесказанное, целью исследования было выяснение изменений показателей окислительно-восстановительных реакций, активности ферментов антиоксидантной системы и маркеров эндотоксемии в условиях экспериментальной ожоговой травмы и в условиях применения экзогенного препарата сурфактанта «Куросурф».

Материалы и методы. В эксперименте использовано 72 нелинейных белых крысы-самца с массой тела (185 ± 5) г, которые содержались в стандартных условиях вивария. Все манипуляции с экспериментальными животными проводили согласно «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей», а также с соблюдением «Научно-практических рекомендаций по содержанию лабораторных животных и работы с ними» [4, 13]. Подопытные животные были разделены таким образом: 1 группа – интактные животные (8 особей); 2 группа – животные с ожоговой травмой (32 особи); 3 группа – животные с ожоговой травмой, которым интратрахеально вводили экзогенный препарат сурфактанта «Куросурф» (32 особи).

Ожоговую травму (ОТ) наносили под кетаминевым наркозом на эпилированную поверхность кожи спины животного двумя медными пластинами, нагретыми до температуры 97-100 °С, длительностью 15 секунд. Размеры участка повреждения составляли 18-20 % поверхности тела животных. Под общим наркозом одноразово проводили интратрахеальную инстилляцию экзогенного препарата сурфактанта «Куросурф» в дозе 300 мг/кг массы тела животного.

Животных выводили с эксперимента под кетаминевым наркозом на 3, 7, 14 и 21 сутки, что соответствует стадиям ранней и поздней токсемии, септикотоксемии ожоговой болезни. Токсичность крови оценивали по эритроцитарному индексу интоксикации (ЭИИ) [10] и по содержанию среднемолекулярных пептидов (СМП), а также их низко- и высокомолекулярных фракций [11]. Исследуя содержание СМП, вычисляли их коэффициент ($K_{СМП}$) [11]. В гомогенате ткани легких определяли концентрации малонового диальдегида (МДА) [1], диеновых и триеновых конъюгатов (ДК, ТК) [6], активность

каталазы (Кат) и супероксиддисмутазы (СОД) [7, 12]. Концентрацию церулоплазмينا (ЦП) определяли в сыворотке крови по методике [5]. Полученный в результате эксперимента цифровой материал был систематизирован и обработан при помощи методов вариационной статистики с использованием программы «Microsoft Excel 6,0».

Результаты исследования и их обсуждение. Эндогенная интоксикация является неспецифическим синдромом, характерным для многих заболеваний, которые сопровождаются усилением свободнорадикальных процессов. Токсические метаболиты ПОЛ вызывают деструкцию плазматических и цитоплазматических мембран, приводят к развитию токсемии – выходу в кровь из локального очага токсинов, которые вызывают генерализацию патологического процесса. Одним из способов диагностики эндогенной интоксикации является исследование проницаемости мембран эритроцитов.

У таблице 1 приведены данные, которые указывают на изменения ЭИИ при смоделированном термическом ожоге в сравнении с контрольным показателем. На 3, 7 и 14 сутки эксперимента ЭИИ вырос на 46,9 %; 68,4 % и на 69,2 % соответственно, на 21 сутки – на 33,8 %. Результаты оказались достоверными ($p < 0,001$) во всех случаях, что свидетельствует о повышении проницаемости мембран эритроцитов после ожоговой травмы.

Важными маркерами эндогенного токсического синдрома являются среднемолекулярные пептиды (СМП), а именно СМП₁ та СМП₂. В условиях смоделированного патологического процесса наблюдается увеличение фракции СМП с большой молекулярной массой, являющихся продуктами деградации белков-ферментов, нуклеотидов и структурных белков. Установлено увеличение $K_{СМП}$ в группе животных со смоделированным термическим ожогом по сравнению с аналогичным показателем в группе контрольных животных в течение всех сроков наблюдения, что указывает на выраженное увеличение содержания как алифатических, так и ароматических аминокислот в составе пептидных компонентов СМП. Возрастание количества среднемолекулярных пептидов было более выраженным для пула СМП₂₈₀, что указывает на преобладающее увеличение количества ароматических аминокислот в составе средних молекул (табл. 1).

Введение препарата сурфактанта «Куросурф» способствовало снижению уровня эндогенной интоксикации и уменьшению проявлений токсического синдрома, который нарастает в легких в условиях ожоговой травмы.

Таблица 1.

Уровень эндогенной интоксикации в условиях ожоговой травмы и при ее коррекции препаратом сурфактанта «Куросурф» ($M \pm m$).

Показатель	Контроль	Модель	Сроки эксперимента			
			3 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки
ЭИИ, %	57,33 $\pm$ 0,72	ожог	84,21 $\pm$ 0,65 ***	96,57 $\pm$ 0,61 ***	97,03 $\pm$ 0,28 ***	76,68 $\pm$ 0,75 ***
		ожог + лечение	70,55 $\pm$ 0,13 ###	71,47 $\pm$ 0,11 ###	69,62 $\pm$ 0,19 ###	66,77 $\pm$ 0,13 ###
СМП ₁	0,058 $\pm$ 0,001	ожог	0,066 $\pm$ 0,002 ***	0,076 $\pm$ 0,002 ***	0,071 $\pm$ 0,001 ***	0,061 $\pm$ 0,001 *
		ожог + лечение	0,063 $\pm$ 0,002	0,074 $\pm$ 0,002	0,068 $\pm$ 0,001	0,060 $\pm$ 0,001
СМП ₂	0,055 $\pm$ 0,001	ожог	0,068 $\pm$ 0,002 ***	0,079 $\pm$ 0,002 ***	0,074 $\pm$ 0,001 ***	0,062 $\pm$ 0,001 ***
		ожог + лечение	0,061 $\pm$ 0,001 #	0,070 $\pm$ 0,001 ##	0,064 $\pm$ 0,001 ###	0,055 $\pm$ 0,001 ###
К _{СМП}	0,95 $\pm$ 0,02	ожог	1,03 $\pm$ 0,03	1,04 $\pm$ 0,03*	1,04 $\pm$ 0,03 *	1,02 $\pm$ 0,02
		ожог + лечение	0,97 $\pm$ 0,02	0,96 $\pm$ 0,02	0,94 $\pm$ 0,01 #	0,92 $\pm$ 0,01 ###

Примечание. 1. * - показатели, которые статистически достоверно отличаются от аналогических в контрольной группе животных (* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$);

2. # - показатели, которые статистически достоверно отличаются от аналогических в группе животных с ожоговой травмой (# - $p < 0,05$; ## - $p < 0,01$; ### - $p < 0,001$).

Так, наблюдается достоверное уменьшение ЭИИ на 3, 7, 14 и 21 сутки эксперимента на 16,2; 26,0; 28,2 и 12,9 % соответственно в сравнении с группой животных, которым сурфактант не вводили. Установлено также снижение содержания как алифатических (СМП₁), так и ароматических аминокислот (СМП₂) в составе средномолекулярных пептидов, что подтверждается снижением К_{СМП} в течении всех сроков наблюдения (см. табл. 1).

Интенсивность процессов свободнорадикального окисления оценивали по динамике концентраций МДА, ДК и ТК. Результаты исследования указанных показателей представлены на рис. 1 А.

Установлено, что смоделированная ожоговая травма приводит к существенному повышению концентрации МДА в гомогенате легких на 3, 7, 14 и 21 сутки эксперимента: соответственно в 3,2; 6,9; 4,9 и 4,2 раза ($p < 0,001$) в сравнении с аналогическими показателями в контрольной группе животных.

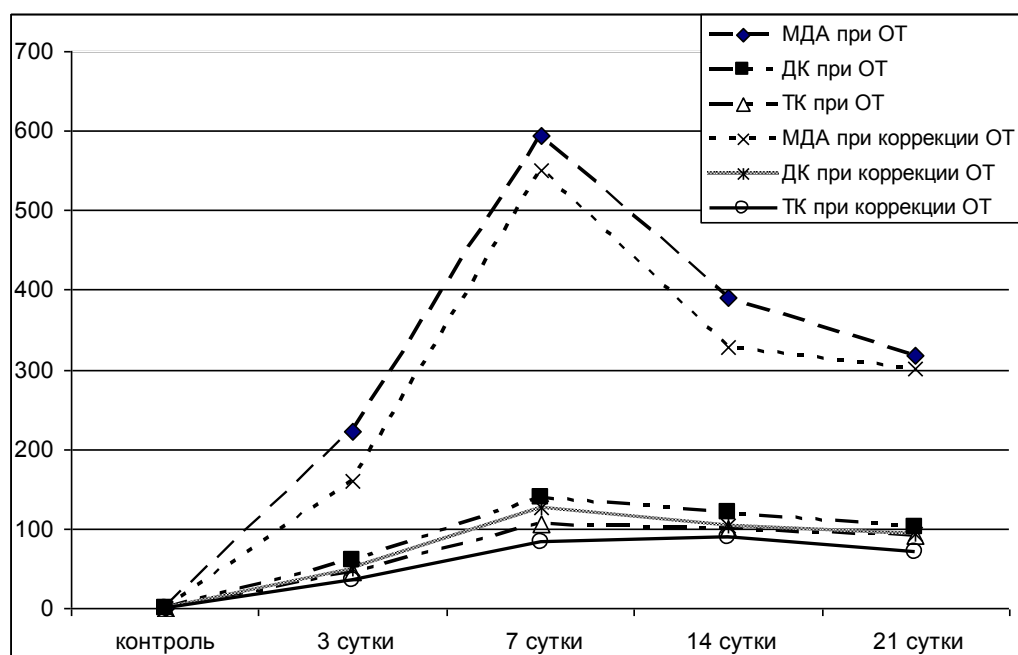
Известно, что активация ПОЛ в ткани легких вызывается радикалами $OOCCl_3$, которые, взаимодействуя с липидами, образуют диеновые и триеновые радикалы. Результаты исследований концентрации ДК и ТК показали, что данные показатели достоверно возрастают во всех сроках наблюдения (см. рис. 1 А).

При ожоговой травме в ткани легких на 3, 7, 14 и 21 сутки наблюдалось снижение активности таких антиоксидантных ферментов, как Кат (в 1,3; 1,7; 2,1 и 1,4 раза), СОД (в 1,5; 2,1; 1,9 и 1,5 раза) и ЦП (в 1,7; 2,8; 2,4 и 2,0 раза соответственно) в сравнении с аналогическими показателями в группе контрольных животных (рис. 1 Б).

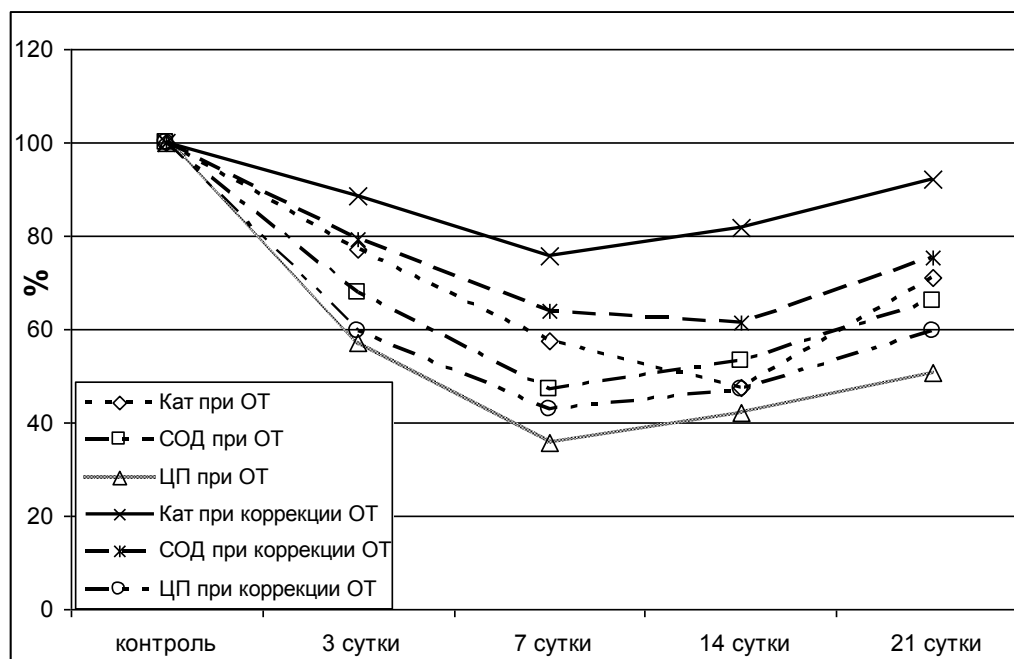
С целью коррекции состояния ткани легких в условиях ожоговой травмы был использован препарат сурфактанта «Куросурф». В условиях введения указанного препарата концентрация МДА в ткани легких снижалась во всех сроках наблюдения ($p < 0,001$) в сравнении с группой животных, которым коррекция не осуществлялась. В этой группе животных в гомогенате легочной ткани наблюдалась также тенденция к снижению концентраций ДК и ТК (см. рис. 1 А).

Применение корректирующего фактора привело к увеличению активности Кат и СОД в гомогенате ткани легких, а также способствовало восстановлению концентрации ЦП в сыворотке крови во все сроки наблюдения (см. рис. 1 Б).

Так, активность Кат в гомогенате ткани легких на 3 сутки наблюдения выросла на 11,6 %, на 7 сутки - на 18,2 %, на 14 сутки - на 34,4 %, на 21 сутки - на 21,1 % в сравнении с аналогическими показателями в группе пораженных животных, которым препарат не вводили.



А.



Б.

Рис. 1. результаты применения препарата сурфактанта «Куросурф» с целью коррекции ожоговой травмы у белых крыс (А – изменения прооксидантных параметров в группе животных с ожоговой травмой и при ее коррекции; Б – динамика антиоксидантных показателей в группе животных с ожоговой травмой и при ее коррекции).

Так, наблюдается достоверное уменьшение ЭИИ на 3, 7, 14 и 21 сутки эксперимента на 16,2; 26,0; 28,2 и 12,9 % соответственно в сравнении с группой животных, которым сурфактант не вводили. Установлено также снижение содержимого как алифатических (СМП₁), так и ароматических аминокислот (СМП₂) в составе средномолекулярных пептидов, что подтверждается снижением К_{СМП} в течении всех сроков наблюдения (см. табл. 1).

Интенсивность процессов свободнорадикального окисления оценивали по динамике концентраций МДА, ДК и ТК. Результаты исследования указанных показателей представлены на рис. 1 А.

Выводы. Применение препарата сурфактанта «Куросурф» положительно влияет на организм подопытных животных: во все сроки наблюдения установлено тенденцию к снижению проявлений эндотоксемии; выявлено уменьшение активности свободнорадикальных

процессов и повышение активности антиоксидантных ферментов в ткани легких и крови подопытных животных и восстановление прооксидантно-антиоксидантного равновесия.

Перспективным для дальнейшего исследования является установление целесообразности и эффективности совместного применения ранозаживляющих, детоксицирующих и мембраностабилизирующих средств с целью предупреждения или смягчения нежелательных последствий ожоговой травмы и их негативного влияния на структуру ткани легких.

Литература:

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. – Т. 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. Белоконов // Український пульмонологічний журнал. – 2002. – № 1. – С. 66–68.
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. – Київ : 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 // Лабораторное дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
7. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
8. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях : Метод. рекомен. / 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.] // Лабораторное 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 // Лабораторное 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.

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

З.М. НЕБЕСНА, К.С. ВОЛКОВ,
Н.Е. ЛИСНИЧУК, И.Я. ДЕМКИВ

Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского,
Украина, г. Тернополь

В ткани легкого при ожоговой травме происходят сложные структурные и метаболические изменения в результате активации свободнорадикальных процессов на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной защиты и нарастания проявлений эндотоксемии. Коррекция термической травмы препаратом сурфактанта способствует снижению активности свободнорадикальных процессов и повышению активности антиоксидантных ферментов в ткани легких и крови подопытных животных и восстановлению прооксидантно-антиоксидантного равновесия и, как результат, снижению в них проявлений эндогенной интоксикации.

Ключевые слова: термическая травма, легкие, сурфактант, эндогенная интоксикация, антиоксидантная система.