

**ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
“ТЕРНОПЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ імені І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ”**

МАРУЩАК МАРІЯ ІВАНІВНА

УДК 616.2-022.6-008.9/-002.43]-092

**ПАТОГЕНЕЗ ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ ЛЕГЕНЬ: ПОРУШЕННЯ ОКСИДАЦІЙНИХ,
ІМУНО-ЦИТОКІНОВИХ, НЕКРОТИЧНИХ ТА АПОПТОЗ-ОПОСЕРЕДКОВАНИХ
ПРОЦЕСІВ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

АВТОРЕФЕРАТ

**дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук**

Тернопіль – 2012

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у державному вищому навчальному закладі «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Науковий консультант:

доктор медичних наук, професор **Бондаренко Юрій Іванович**, державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», завідувач кафедри патологічної фізіології.

Офіційні опоненти:

заслужений працівник освіти України, доктор медичних наук, професор **Регада Михайло Степанович**, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, завідувач кафедри патологічної фізіології;

доктор медичних наук, професор **Ткачук Світлана Сергіївна**, Буковинський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри фізіології;

доктор медичних наук, доцент **Рикало Надія Анатоліївна**, Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри патологічної фізіології.

Захист відбудеться 30 листопада 2012 р. об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у державному вищому навчальному закладі «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» за адресою: 46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці державного вищого навчального закладу «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» за адресою: 46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8.

Автореферат розісланий 26 жовтня 2012 року.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради,
доктор біологічних наук, професор

І.М. Кліщ

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Гостре ураження легень є серйозною клінічною проблемою і включає тяжкі пошкодження альвеоло-капілярної мембрани та набряк легень (G.D. Perkins, 2005; R. Blank; 2011). За даними різних авторів частота гострого ураження легень складає близько 150-200 тис. випадків на рік (G.D. Rubenfeld, 2005; M.A. Matthay, 2011), причому на захворюваність впливає ряд чинників – вік, стать, расова й етнічна приналежність (S.E. Erickson, 2009; R.J. Elizabeth, 2010; L.M. Brown, 2011). Смертність при даному синдромі сягає 40-60 %, що вдвічі перевищує летальність при раку молочної залози або простати та в декілька разів – при синдромі набутого імунodefіциту (G.D. Rubenfeld, 2005; A.P. Wheeler, 2007; P.R. Rocco, 2009).

Етіологічна багатofакторність гострого ураження легень, з одного боку, ускладнює його дослідження, з іншого – відкриває простір для пошуку нових патогенетичних ланок даної недуги (M.A. Андрейчин, 2009; A.N. Kuzovlev, 2010; P. Osterlund, 2010; D. Osaka, 2011; N.H. Young, 2011; L.C. Ikreama, 2012; H.A. Khadawardi, 2012).

Незалежно від етіологічних чинників, в основі гострого ураження легень лежать спільні патогенетичні механізми: запальна реакція на дію патогенних факторів, секвестрація нейтрофілів у легені та пошкодження альвеоло-капілярної мембрани з розвитком гіпоксемії, дисфункція цитокінової системи, «кисневий спалах», зниження продукції й активності сурфактанту та інші (K.Y. Yang, 2003; G.D. Perkins, 2005; M.R. Looney, 2009; S.M. Moskowitz, 2010; E.R. Johnson, 2010).

Усе більше уваги останнім часом приділяється вивченню механізмів розвитку гострого ураження легень (S. Endo, 2006; T. Kodama, 2007; M. Perl, 2011). Одним із сучасних маркерів розвитку захворювань, у тому числі й легеневих, є апоптоз клітин (X. Li, 2004; K. Kuwano, 2007). Дисбаланс у системі його регуляції лежить в основі розвитку ряду захворювань, тому дослідження апоптозу має перспективне значення у вивченні патогенезу гострого ураження легень (H.H. Петрищев, 2008; W.C. Lin, 2011; J.W. Zmijewski, 2011). Проведені попередні дослідження рівня апоптозу при гострому ураженні легень містять суперечливі дані щодо його ролі в патогенезі даного синдрому (G. Matute-Bello, 2000; A. Cross, 2008). Одні дослідники стверджують про гальмування апоптозу нейтрофілів у бронхоальвеолярному змиві при гострому ураженні легень (G. Matute-Bello, 2003), інші – про активацію програмованої смерті клітин при деяких експериментальних моделях досліджуваної патології (M.V. Parsey, 1999). Для підтвердження легеневих і позалегеневих змін при гострому ураженні легень, як і при інших хворобах респіраторної системи, дослідники використовують дані світлової й електронної мікроскопії, які вказують на руйнування ендотелію судин альвеолоцитів, що збільшує секвестрацію нейтрофілів, стимулює апоптоз (P. Pelosi, 2003; L.S. Menezes, 2012).

Для більш повного розуміння процесу гострого ушкодження легень важливою є оцінка не лише окремих патогенетичних ланок, але й визначення характеру взаємовідношення між

локальними та системними проявами даної патології. Тому комплексне вивчення метаболічних, імунних, цитокинових, некротичних, апоптоз-опосередкованих і морфологічних порушень при гострому ураженні легень та їх взаємозалежності є необхідним для формування цілісної уяви про його патогенез, що обґрунтовує актуальність даного дисертаційного дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментами фундаментальної теми з держбюджетним фінансуванням «Експериментальне дослідження закономірностей апоптозу в умовах тяжкої комбінованої травми» (№ держреєстрації 01107U001938) та комплексної наукової роботи ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» на тему «Біохімічні механізми токсичності наночастинок різної природи та інших антропогенних і біогенних токсикантів в біологічних системах» (№ держреєстрації 0112U000542). Здобувач є співвиконавцем даних наукових робіт. Тема дисертаційної роботи затверджена Проблемною комісією «Нормальна і патологічна фізіологія» НАМН та МОЗ України 31.05.2012 р. (протокол № 2).

Мета дослідження. З'ясувати патогенез експериментального гострого ураження легень на підставі дослідження порушень системного і легеневого гомеостазу за патобіохімічними критеріями та вираженістю деструктивних процесів.

Завдання дослідження:

1. Дослідити в динаміці особливості розвитку кисневого дисбалансу та стан центральної і периферійної гемодинаміки у тварин (білі щурі) із експериментальним гострим ураженням легень, індукованим інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти.

2. Визначити системні та регіонарні показники порушення пероксидного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків, функціональний стан системи антиоксидного захисту в різні терміни експериментального гострого ураження легень.

3. Встановити роль системи оксиду азоту в механізмах розвитку експериментального гострого ураження легень.

4. Дослідити особливості порушень клітинної та гуморальної ланок імунного захисту, цитокинового профілю сироватки крові та бронхоальвеолярного змиву в білих щурів з гострим ураженням легень.

5. З'ясувати закономірності розвитку ендотоксикозу та роль гранулоцитів крові і бронхоальвеолярного змиву в ініціації запального процесу і деструкції легеневої тканини при гострому ураженні легень.

6. Визначити особливості реалізації програмованої та індукованої загибелі нейтрофілів, стан рецепторного та мітохондрій-опосередкованого шляхів ініціації апоптозу за умов гострого ураження легень та встановити взаємозв'язок між ними.

7. Оцінити патогенетичну роль кисневого дисбалансу та загибелі клітин у механізмах

розвитку морфологічних змін у легенях при експериментальному гострому їх ураженні.

Об'єкт дослідження – експериментальне гостре ураження легень.

Предмет дослідження – показники кисневого обміну, рН крові, процесів пероксидного окиснення ліпідів, окиснювальної модифікації білків, антиоксидного захисту, системи оксиду азоту, клітинної і гуморальної ланок імунного захисту, ендогенної інтоксикації, цитокінового профілю, вільнорадикального окиснення, шляхи реалізації клітинної загибелі, морфологічна та електронномікроскопічна картина легень в умовах експериментального гострого ураження легень хлоридною кислотою.

Методи дослідження: експериментальні – для моделювання гострого ураження легень; електрохімічні – для вивчення газового складу та рН артеріальної і венозної крові; фізичні – для вимірювання величини легеневого набряку, для вивчення особливостей центральної і периферійної гемодинаміки; біохімічні – для оцінки пероксидного окиснення білків і ліпідів, антиоксидного захисту, системи оксиду азоту; імунологічні – для дослідження клітинної та гуморальної ланок імунітету, загальних циркулюючих імунних комплексів, ендогенної інтоксикації; імуноферментні – для визначення вмісту імуноглобулінів, цитокінів; цитофлуориметричні – для дослідження шляхів ініціації апоптозу; морфологічні – для якісного і кількісного аналізу ступеня структурних пошкоджень у легенях; математико-статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі вперше на підставі комплексних досліджень та оцінки порушень кисневого дисбалансу, пероксидного окиснення білків і ліпідів, антиоксидного захисту, системи оксиду азоту, цитокіногенезу, клітинної та гуморальної ланок імунітету, розвитку ендогенної інтоксикації, особливостей реалізації програмованої та індукованої загибелі нейтрофілів, стану рецепторного та мітохондрій-опосередкованого шляхів ініціації апоптозу їх у крові, бронхоальвеолярному змиві і гомогенаті легень та патоморфогенезу тканини легень отримано нові дані щодо патогенезу гострого ураження легень у щурів.

Доведено, що підвищення інтенсивності пероксидного окиснення білків та ліпідів за умови гострого ураження легень, спричиненого хлоридною кислотою, є основними чинниками ендотоксикозу. Встановлена пряма залежність між активацією процесів вільнорадикального окиснення, пригніченням антиоксидного захисту, ініціацією запального процесу і деструкцією легеневої тканини.

Уперше показано, що при гострому ураженні легень внаслідок інтратрахеального введення хлоридної кислоти у бронхоальвеолярному змиві та сироватці крові розвивається взаємозв'язана гіперпродукція прозапальних ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8, що сприяє активації й дегрануляції нейтрофілів та запуску метаболічних каскадних реакцій. При цьому дисбаланс вмісту ІЛ-8 позитивно корелює з підвищеною кількістю гранулоцитів у досліджуваних біологічних рідинах. У перші 12 год ІЛ-10

сповільнює надмірну продукцію прозапальних цитокінів, проте даний механізм виснажується через 24 години.

Уперше виявлено, що впродовж першої доби у щурів із гострим ураженням легень явища раннього та пізнього апоптозу або некрозу зазнають динамічних змін у гомогенаті легень і бронхоальвеолярному змиві, що проявляється наростанням деструкції нейтрофільних гранулоцитів по типу пізнього апоптозу або некрозу в перші 6 год ураження, з наступним сповільненням цих процесів та активацією раннього апоптозу, який досягає максимальних значень через 24 години. Ці порушення пов'язані з прямою пошкоджуючою дією хлоридної кислоти на альвеолярний епітелій та розвитком некротичних процесів у легенях у перші години ураження.

Уперше констатовано, що ініціація першого етапу апоптозу за умов гострого ураження легень здійснюється за участі ФНП- α та продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів і білків. Встановлено виражений проапоптичний ефект ФНП- α та кількості тих нейтрофілів, які мають на своїй поверхні мембранозв'язуючі рецептори ФНП- α типу 1, що підвищує ймовірність їх залучення в апоптоз. Зниження трансмембранного потенціалу мітохондрій приводить до роз'єднання процесів дихання і окисного фосфорилювання, підвищує кількість внутрішньоклітинних активних форм кисню і веде до необоротних змін у клітинах. Уперше виявлено прогресивне зростання каспази-3 у гомогенаті легень при її незмінній активності в плазмі крові, що доводить наявність різного рівня проапоптогенних сигналів у крові і легенях та різної кількості клітин, що несуть на собі апоптогенні рецептори.

Уперше на підставі оцінки морфологічних порушень у респіраторному відділі легень при гострому їх ураженні з'ясовано, що реалізація комплексу дистрофічних та деструктивних змін відбувається в структурах аерогематичного бар'єра. Зміни морфометричних параметрів тканини легень за умов їх гострого ураження підтверджують і доповнюють характер морфофункціональної перебудови легеневої паренхіми, елементів бронхіального дерева та кровоносного русла в умовах зазначеної патології.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати дозволяють сформулювати цілісну схему патогенезу системних і органоспецифічних легневих чинників розвитку експериментального гострого ураження легень, що може знайти застосування в подальших наукових дослідженнях, пов'язаних із розробкою ефективних засобів протекції та корекції проявів даної патології.

Основні положення дисертаційної роботи можуть бути використані в навчальному процесі при викладанні патологічної фізіології, клінічної патофізіології, пульмонології, клінічної лабораторної діагностики, патологічної анатомії та імунології студентам медичних навчальних закладів, а також у роботі науково-дослідних лабораторій за даною проблематикою.

Результати проведених досліджень впроваджено в наукову роботу і навчальний процес на

кафедрах екстреної медичної допомоги і медицини катастроф з курсом військової підготовки, патологічної фізіології, патологічної анатомії з курсом судової медицини, хірургії з анестезіологією № 2, клініко-лабораторної діагностики, клінічної імунології, алергології та загального догляду за хворими ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», на кафедрах патоморфології, патологічної фізіології, фтизіатрії та пульмонології Буковинського державного медичного університету, на кафедрах патологічної фізіології, фтизіатрії та пульмонології Харківського національного медичного університету, на кафедрі фтизіатрії та пульмонології Донецького національного медичного університету, на кафедрах патологічної фізіології, фтизіатрії і пульмонології ДУ «Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського».

Особистий внесок здобувача. Автор самостійно розробила основні теоретичні і практичні положення роботи, провела літературний і патентний пошуки за темою дисертаційної роботи, опанувала методики досліджень і виконала експерименти, здійснила статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, написання розділів дисертаційної роботи та публікацій. Разом із науковим консультантом сформулювала основні наукові положення та висновки. За безпосередньої участі автора виконано всі втручання на лабораторних тваринах. Експериментальну частину роботи виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії (свідоцтво про атестацію № 000478 від 17.12.2007 р.) та міжкафедральної науково-клінічної лабораторії (свідоцтво про атестацію № 000479 від 17.12.2007 р.) ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», клініко-діагностичної лабораторії КЗ ТОР «Тернопільська університетська лікарня» (свідоцтво про атестацію № РХ – 500/07 від 12.03.2007 р.), науково-дослідної лабораторії порівняльної біохімії та молекулярної біології Тернопільського національного педагогічного університету імені В. Гнатюка (свідоцтво про атестацію № 004/10 від 27.11.2010 р.). Гістологічні дослідження та мікрофотозйомку здійснено на кафедрі патологічної анатомії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» під керівництвом проф. Я.Я. Боднара, електронно-мікроскопічні дослідження – на кафедрі гістології під керівництвом проф. К.С. Волкова, за що автор висловлює їм подяку.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, здобувачу належать виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення отриманих даних, підготовка матеріалів до друку.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації оприлюднено на Міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених «Молодь - медицині майбутнього» (Одеса, 2011), II Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених (Вінниця, 2011), регіональній науковій конференції «Галицькі анестезіологічні читання: актуальні питання

анестезіології та інтенсивної терапії» (Тернопіль, 2011), науково-практичній конференції «Актуальні проблеми діагностики, лікування та профілактики туберкульозу у світлі стратегії Stop TB», присвяченій 50-річчю кафедри фтизіопульмонології (Мінськ, 2011), науково-практичній конференції молодих вчених, присвяченій 150-річчю заснування Харківського медичного товариства «Медицина XXI століття» (Харків, 2011), XV, XVI Міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених (Тернопіль, 2011, 2012), підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2012), науково-практичній конференції студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів, присвяченій 20-річчю заснування медичного університету «Актуальні питання теоретичної медицини» (Суми, 2012), Всеросійській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання медичної науки», присвяченій 70-річчю професора О.О. Чумакова (Ярославль, 2012), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хвороби органів дихання: від дитини до дорослого» (Чита, 2012), XIII Тихоокеанській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Владивосток, 2012), Всеукраїнській науково-практичній конференції, присвяченій дню науки «Внесок молодих спеціалістів в розвиток медичної науки і практики» (Харків, 2012), 4-му Міжнародному медичному конгресі студентів і молодих лікарів «MedEspera-2012» (Молдова, 2012).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 40 наукових робіт, із них 23 – у наукових фахових виданнях (15 – у моноавторстві), 16 – у матеріалах і тезах конференцій та конгресів, один патент на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з вступу, 7 розділів, висновків, списку використаних джерел, 15 додатків. Роботу викладено на 358 сторінках комп'ютерного тексту, проілюстровано 46 таблицями, 92 рисунками. Список використаних джерел налічує 563 найменування. Бібліографічний опис літературних джерел та додатки викладені на 76 сторінках.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проведені на 340 білих нелінійних щурах-самцях віком 6-8 місяців масою 200-220 г. Вказані тварини утримувалися у віварію ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» на стандартному раціоні у відповідності до санітарно-гігієнічних норм та вимог GLP. Всі експерименти виконано з дотриманням норм Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Комісією з питань біоетики ДВНЗ «Тернопільський державний медичний

університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 11 від 13.03.2012 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

На першому етапі досліджено щури з урахуванням їх індивідуальної резистентності до гіпоксії за методикою В.Я. Березовського (1978), яка полягала в індивідуальному випробуванні лабораторних тварин у барокамері, де створювалося розрідження, що відповідало висоті 12 тис. м. При цьому швидкість підйому становила 50 м/с. При появі другого агонального вдиху, тремору або судом фіксували час з наступною нормалізацією тиску у камері. Низькостійкими вважали щурів при появі другого агонального вдиху, тремору або судом менше 180 с, середньостійкими – від 180 до 420 с, високостійкими – більше 420 с. Для подальших досліджень використовували середньостійких до гіпоксії щурів з часом (280 ± 40) с.

Для відтворення гострого ураження легень (ГУЛ) використана модель G. Matute-Bello (2008) в авторській модифікації: за 20 хвилин до початку операції внутрішньочеревно вводили тіопентал натрію ($40 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$), проводили цервікотомію довжиною 1,0-1,5 см для візуалізації трахеї. Тварин розміщували горизонтально під кутом 45° , знаходили трахею і вводили в неї хлоридну кислоту (HCl) при pH 1,2 з розрахунку $1,0 \text{ мл} \cdot \text{кг}^{-1}$ маси тіла під час вдиху.

Усіх тварин поділили на експериментальні групи: 1 – інтактні (контрольні) щури ($n=20$); 2 – щури з ГУЛ через 2 год після введення HCl ($n=80$); 3 – щури з ГУЛ через 6 год після введення HCl ($n=80$); 4 – щури з ГУЛ через 12 год після введення HCl ($n=80$); 5 – щури з ГУЛ через 24 год після введення HCl ($n=80$).

Для дослідження брали цільну кров, сироватку і плазму крові, гомогенат легень, бронхоальвеолярний змив (БАЗ). Крім цього, вивчали гістологічну і морфометричну картину тканини легень.

Із метою оцінки провідних механізмів ГУЛ та кисневого дисбалансу у тварин визначали показники газового складу крові, пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), окиснювальної модифікації білків (ОМБ), системи антиоксидного захисту, ендогенної інтоксикації, імунітокінових реакцій, деструктивні зміни в динаміці розвитку процесу.

Для визначення газового складу крові у тварин за розробленим методом забирали артеріальну та венозну кров із дослідженням на аналізаторі «Эц-60Э» (ТОВ «Кверти-Мед», Росія): pH, напруження вуглекислого газу ($p\text{CO}_2$) і кисню ($p\text{O}_2$), індексу оксигенації ($p\text{O}_2/\text{FiO}_2$), альвеолярно-артеріального градієнту за киснем (AaDO_2). Для вимірювання величини легеневого набряку визначали wet to dry ratio (W/D) (S. Klinzing, 2000). Дослідження центральної і периферійної гемодинаміки виконували шляхом реєстрації інтегральної реографії в умовах тіопентало-натрієвого знеболення ($40 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$) на кардіокомплексі “CardioLab+” (ХАІ-МЕДИКА, м. Харків, Україна) з частотою зондування 25-40 кГц. За отриманими даними розраховували дикротичний індекс (ДКІ), що характеризує опір артеріальних судин, реографічний діастолічний

індекс (РДІ), який відображає інтенсивність венозного відпливу, коефіцієнт інтегральної тоничності (КІТ), що вказує на сумарний артеріальний імпеданс. За модифікованою формулою М.И. Тищенко (1973) розраховували ударний об'єм (УО). За коливаннями ізолінії, яка залежить від дихальних рухів тварини, визначали тривалість дихального циклу і частоту дихання (ЧД). Із метою оцінки інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів та стану антиоксидної системи визначали вміст ТБК-активних продуктів (Э.Н. Коробейникова, 1989), дієнових (ДК) і трієнових кон'югатів (ТК) (В.С. Бузлама, 1997, О.Є. Гріднев, 2005) у сироватці крові, гомогенаті легень і БАЗ, активність супероксиддисмутази (СОД) (С. Чевари, 1985) і каталази (КТ) (М.А. Королук, 1988), уміст сульфгідрильних груп (SH-груп) (J.A. Moffat, 1982), церулоплазмину (ЦП) (Р. Досон, 1991) та загальну антиоксидантну активність (ЗАОА) (J. Stock, 1979), а також уміст продуктів ОМБ (А.И. Арчаков, 1998) у крові та гомогенаті легень. Для оцінки системи оксиду азоту визначали метаболіти оксиду азоту (NO_2^-) (О.Я. Склярів, 2004) у сироватці крові та гомогенаті легень.

Дослідження клітинної (CD3^+ , CD4^+ , CD8^+) і гуморальної (CD19^+) ланок імунітету здійснювали імунофлуоресцентним методом за допомогою моноклональних антитіл до CD3^+ , CD4^+ , CD8^+ і CD19^+ антигенів щура, кон'югованих із флуоресцеїнізотіоціанатом (FITC) виробництва Beckman Coulter (США) в крові та БАЗ. Наявність системних автоімунних реакцій верифікували за вмістом циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) (М.Ю. Гаєвська, 2000). Для оцінки ступеня ендотоксикозу в БАЗ та сироватці крові визначали вміст молекул середньої маси (МСМ) при оптичній щільності 254 (МСМ/254) і 280 (МСМ/280) нм за методом Н.И. Габриелян і співавт. (1981) та еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІ) (А.А. Тогайбаев и др., 1988). Уміст сироваткових імуноглобулінів (Ig) А, М, G визначали імуноферментним аналізом (ІФА) за допомогою реактивів фірми «Гранум» (Україна). Цитокіновий профіль у сироватці крові й БАЗ визначали за концентрацією ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10 методом ІФА з використанням наборів ТОВ «Укрмедсервіс» (Донецьк).

Для дослідження шляхів ініціації апоптозу підраховували кількість нейтрофільних гранулоцитів (НГ) у камері Горяєва (1987), рівень активних форм кисню (АФК), кількість НГ, що несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП типу 1 (ФНП-R1), кількість нейтрофілів зі зниженим трансмембранним потенціалом мітохондрій ($\Delta\psi$) у крові й БАЗ, активність каспаз у крові та гомогенаті легень. Для оцінки індукованої загибелі нейтрофілів легень, БАЗ та крові використовували FITC-мічений анексин V та пропідію йодид (PI) з набору реагентів "ANNEXIN V FITC" виробництва «Beckman Coulter» (США). При цьому НГ, позитивні за PI і анексину V вказували на пізню стадію апоптозу або некроз, а НГ, позитивні за анексину V і негативні за PI – на ранню стадію апоптозу. Для якісного і кількісного аналізу ступеня структурних пошкоджень у легенях застосовували гістологічні, морфометричні показники тканини легень, зокрема ширину

міжальвеолярної перегородки (ШМП), об'ємну частку пневматизованого простору легеневої тканини (ОЧПП), відносну товщину стінки бронха (ВТСБ), відносну площу кровоносних судин (ВПКС), відносну товщину судинної стінки (ВТСС), та електронно-мікроскопічні методи дослідження.

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення «Excel» («Microsoft», США) та «STATISTICA» 6.0 («Statsoft», США) з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента, в інших випадках – за допомогою U-критерію Мана-Уїтні. Аналіз кореляційних зв'язків отриманих результатів проводили з використанням статистики Спірмена.

Результати досліджень та їх обговорення. Проведені дослідження виявили розвиток набряку легень, який характеризувався вищим в 1,6 раза ($p < 0,01$) співвідношенням W/D через 2 год після інтратрахеального введення тваринам НСІ порівняно з контролем. Унаслідок цього погіршувався газообмін у легенях, що зумовлювало порушення кислотно-лужного балансу в перші 6 год експерименту у вигляді респіраторного ацидозу, обумовленого підвищенням в артеріальній крові pCO_2 та зниженням pO_2 і pH (рис. 1).

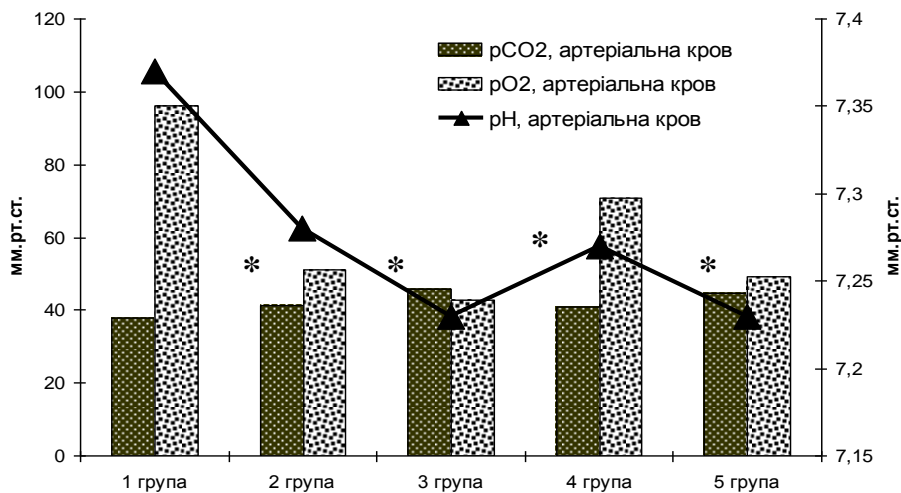


Рис. 1. Динаміка змін газового складу крові та pH за умов гострого ураження легень.

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

У 4-й дослідній групі зростання pH артеріальної крові ($p < 0,05$), незначне зниження pCO_2 ($p < 0,05$) та підвищення pO_2 ($p < 0,01$) свідчили про компенсацію дихального ацидозу, яка була тимчасовою і через 24 год спостереження змінювалася поглибленням респіраторного ацидозу.

Оскільки показники насичення артеріальної крові киснем на тлі ГУЛ були меншими порівняно з контролем, то й відповідно в дослідних групах збільшувався альвеолярно-артеріальний градієнт за киснем. Даний показник підтверджує зменшення ступеня насичення крові киснем в умовах ГУЛ.

Отже, головним проявом ГУЛ був розвиток гіпоксії й респіраторного ацидозу, що зумовлене порушенням дифузії газів в альвеолах. На цьому фоні відбувалася адаптаційна перебудова центральної гемодинаміки. Насамперед, привертає увагу антифазова динаміка РСІ, який був вищий на 6-ту і 24-ту год відповідно на 25,5 і 24,9 % ($p < 0,05$), та частоти серцевих скорочень, що на 6-ту год була меншою на 20,1 %, ($p < 0,05$), проте в наступні терміни істотно не відрізнялася від рівня контролю. На тлі зниження частоти серцевих скорочень компенсаторно підвищувалося пульсове кровонаповнення досліджуваної ділянки (зростання ДІ на 14,3 % у 5-й дослідній групі, $p < 0,05$). На 12-ту і 24-ту год. збільшувався хвилинний об'єм крові, на що вказувало підвищення ударного об'єму на тлі стабільної частоти серцевих скорочень. Усе це свідчило про посилення інотропних впливів на серцевий м'яз і розвиток централізації кровообігу в умовах досліджуваної патології, при якій відмічається перерозподіл крові з периферійних ділянок тіла в центральну. Наростання дихальної недостатності на 24-ту год після ураження легень залучало додатковий компенсаторний механізм стабільного пульсового кровонаповнення центральної частини тіла за рахунок збільшення тону артеріальних судин.

Враховуючи значну роль у патогенезі ГУЛ гіпоксії, досліджено інтенсивність її чутливих маркерів – процесів ліпопероксидації та антиоксидного захисту. Встановлено достовірне прогресуюче підвищення рівня ДК, ТК та ТБК-активних продуктів у сироватці крові, гомогенаті легень і БАЗ (рис. 2).

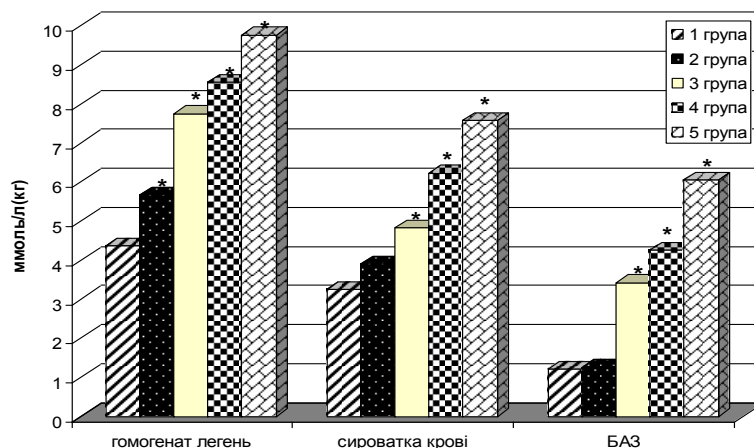


Рис. 2. Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів пероксидного окиснення ліпідів за умов гострого ураження легень.

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

Виявлено, що при ГУЛ, незважаючи на односпрямованість змін досліджуваних показників ПОЛ, вільнорадикальні процеси активуються, насамперед, безпосередньо у вогнищі ураження легень з наступним вторинним потраплянням продуктів у гуморальні середовища організму.

На відміну від гомогенату легень, у перші 2 год ураження у БАЗ рівень досліджуваних показників не відрізнявся від контролю. Проте в 3-й експериментальній групі рівень ТБК-активних продуктів був у 2,9 раза вищий стосовно контролю і до кінця першої доби перевищував результати 1-ї групи в 5 разів ($p < 0,001$).

Згідно отриманих даних, у щурів 2-ї дослідної групи у сироватці крові та гомогенаті легень спостерігався високий рівень альдегідо- і кетонпохідних лужного й нейтрального характеру порівняно з контрольною групою ($p > 0,001$). Через 24 год експерименту вміст альдегідо- і кетонпохідних лужного й нейтрального характеру був майже втричі більший показників контрольної групи у сироватці крові й гомогенаті легень ($p > 0,001$). Так, вміст альдегідо- і кетонпохідних нейтрального характеру в 5-й дослідній групі становив ($1,78 \pm 0,07$) ммоль/г білка проти ($0,67 \pm 0,01$) ммоль/г білка в контролі у крові ($p > 0,001$) та ($2,52 \pm 0,05$) ммоль/г білка проти ($0,96 \pm 0,02$) ммоль/г білка в 1-й групі у легенях ($p > 0,01$), що вказує на глибоке ураження білкових структур при даній моделі ГУЛ. Встановлено, що в перші години захворювання ОМБ прямо корелюють з СОД (у крові $r = 0,64$; $p < 0,05$ та гомогенаті легень $r = 0,66$; $p < 0,05$), що вказує на антиоксидні властивості ОМБ, які сприяють відновленню оксидного потенціалу клітини за рахунок активації СОД, чим обмежують вільнорадикальні процеси (О.В. Занозина, 2010). Проте через 12 год експерименту виявлено прямий кореляційний зв'язок між ОМБ і ТБК-активними продуктами ПОЛ (у крові $r = 0,66$; $p < 0,05$ та гомогенаті легень $r = 0,72$; $p < 0,05$), що вказує на виснаження резервно-адаптаційних можливостей організму, і зростання рівня ОМБ на цьому етапі виступає додатковим джерелом вільних радикалів, інактивує антиоксидантні ферменти та сприяє поглибленню вільнорадикального окиснення.

Характеризуючи концентрацію NO_2^- в сироватці крові і гомогенаті легень експериментальних тварин із ГУЛ слід зазначити, що ця величина зростала протягом усього спостереження і через 24 год даний показник перевищував контрольний на 89,1 % у крові і на 237,6 % у легенях ($p > 0,001$). Порівняння динаміки вмісту нітрит-аніону в сироватці крові та гомогенаті легень також виявило односпрямовані зміни даного показника, проте на відміну від рівномірного і поступового зростання NO_2^- в сироватці крові, у легенях відмічалось різке зростання нітрит-аніону на 12-ту год дослідження, яке трималося протягом доби. Це свідчить про залучення до патогенетичного каскаду НСІ-індукованого ГУЛ ендотеліальних механізмів, основним діючим фактором якого є оксид азоту.

Слід зазначити, що оксид азоту на початкових етапах виступає як ендogenous антиоксидант, про що свідчить позитивна кореляція між нітрит-аніоном та СОД у 3-ій групі

(гомогенат легень: $r=0,61$; $p<0,05$; сироватка крові $r=0,58$; $p<0,05$). Проте в умовах наростання оксидного стресу цей взаємозв'язок втратився, що свідчить про ймовірну трансформацію оксиду азоту і його метаболітів у цитотоксичний пероксинітрит (E.L. Schiffrin, 2008).

Таким чином, зсув метаболізму оксиду азоту в бік утворення пероксинітритів в умовах активації процесів вільнорадикального окиснення та дефіциту антиоксидного захисту може слугувати додатковим чинником у потенціюванні розвитку ГУЛ.

Підтримка оптимального редокс-стану клітин потребує адекватного функціонування систем антиоксидного захисту. Існують дані як про активацію антиоксидного захисту клітин за умов накопичення продуктів ПОЛ, так і про різке необоротне інгібування активності антиоксидантних ферментів (В. Коржов, 2007; L.Z. Wang, 2007). Встановлено, що зміни досліджуваних показників мали схожу динаміку. Відбувалася активація антиоксидного захисту організму до 6-ї год експерименту, причому найяскравіші зміни стосувалися активності СОД, яка була вищою на 7,3 % проти контролю ($p<0,05$) і вмісту церулоплазміну (підвищився на 22,5 % відносно 1-ї групи, $p<0,001$) (рис. 3). Проте через 12 год досліду антиоксидантні резерви вичерпувалися й активність основних сполук антиоксидного захисту зменшилася. У 5-й дослідній групі найнижчих цифр досягали СОД ((36,03±1,10) ум.од. проти контролю – (47,96±0,74) ум.од.; $p<0,001$) і каталаза ((34,50±0,16) мкат/л проти контролю – (42,58±1,26) мкат/л; $p<0,001$), причому пригнічення активності одного з ферментів вело до зниження активності іншого, внаслідок чого відбувалася надмірна генерація АФК у крові та бронхоальвеолярному змиві ($p<0,001$) і деструкція клітин. Це свідчило про важливу роль даних ферментів у механізмах оксидантного дисбалансу в патогенезі ГУЛ.

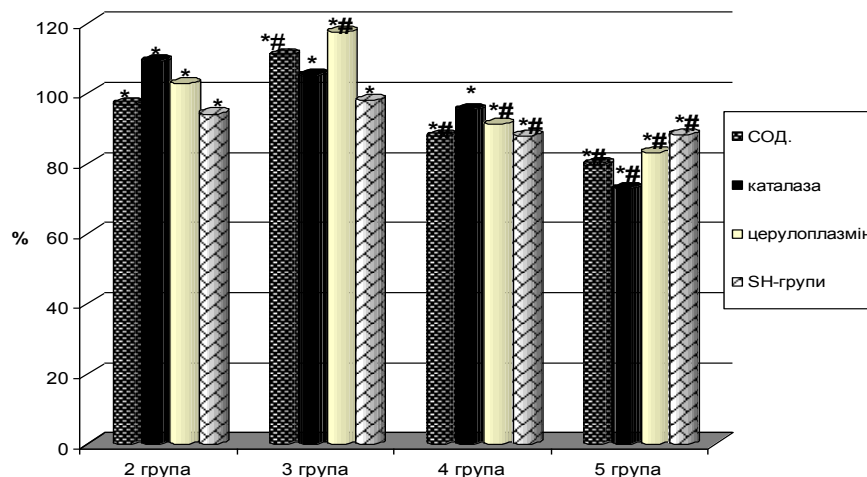


Рис. 3. Відсоткова динаміка показників антиоксидного захисту в крові тварин різних експериментальних груп при гострому ураженні легень (100 % – показник інтактних тварин).

Примітки. * – $p<0,05$ порівняно з контрольною групою; # – достовірність відмінностей показника між 2 і 3, 3 і 4, 4 і 5 дослідними групами.

Схожі зміни відбувалися і в легенях (табл. 1).

Таблиця 1

Показники антиоксидного захисту у гомогенаті легень при експериментальному гострому ураженні легень (M±m)

Дослідна група	СОД, ум.од.	Каталаза, мкат/кг
I (n=12)	35,33±1,25	26,66±1,65
II (n=12)	36,89±0,54	31,03±1,01
III (n=12)	49,52±0,81* p ₁ <0,001	48,32±0,70* p ₁ <0,001
IV (n=12)	41,45±0,57* p ₂ <0,001	48,57±0,74* p ₂ >0,05
V (n=12)	35,18±0,47 p ₃ <0,001	37,88±1,55* p ₃ <0,001

Примітки: * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідною групою в даний термін обстеження; p₁ – достовірність відмінностей між групами II і III; p₂ – достовірність відмінностей між групами III і IV; p₃ – достовірність відмінностей між групами IV і V.

Активність СОД була максимальною через 12 год експерименту, проте через 24 год вона суттєво не відрізнялась від контролю. Активність каталази була достовірно вища контролю у 2-й, 3-й та 4-й групах (p<0,001). Через 24 год дослідів відбулося суттєве зниження її активності на 28,2 % стосовно 4-ї групи, проте активність каталази в цій групі була достовірно вища на 42,1 % результатів контролю (табл. 1). Односпрямованими з показниками ферментної ланки антиоксидного захисту виявилися й відхилення рівня SH-груп та ЗАОА через 24 год, що свідчить про їх участь у цьому процесі при ГУЛ.

Таким чином, отримані результати засвідчують, що на початку гострого ураження легень (2-6 год) на тлі оксидативного стресу відбувалася активація ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи, через 12 год наступало їх виснаження, що підвищувало ризик оксидативного ушкодження.

Основна причина ендогенної інтоксикації пов'язана з посиленням утворенням МСМ за рахунок появи надлишкової кількості деформованих білкових метаболітів і продуктів, які мають у своєму складі вуглеводні компоненти (С.Б. Матвеев, 2009). Дослідження показали, що вміст молекул МСМ/254 у сироватці крові та БАЗ щурів усіх груп спостереження збільшувався. Так, у сироватці крові через 2 год експерименту даний показник був вищий на 15,5 % відносно контролю, через 6 год – на 15,5 % стосовно 2-ї дослідної групи, через 12 год – на 20,6 % відносно

3-ї групи і через 24 год – на 14,6 % проти даних 4-ї дослідної групи. Проведені дослідження з визначення вмісту МСМ/280 показали, що протягом 24 год спостереження їх рівень зростав у всіх групах спостереження ($p < 0,05$) і був найвищим через добу (на 68,2 % у сироватці крові і на 105,8 % у БАЗ стосовно контролю).

Порівнюючи вміст МСМ/254 і МСМ/280, можна відмітити їх достовірне зростання протягом 24 год у БАЗ, що свідчить про наростання ступеня ендогенної інтоксикації.

Встановлені у дослідних групах відмінності вмісту МСМ/254 і МСМ/280 у БАЗ стосовно даних у крові вказує на порушення сурфактантної системи, транскapілярного обміну рідини, розвиток мембранодеструктивних процесів і, як наслідок, підвищене надходження в кровотік токсичних речовин.

Проведений кореляційний аналіз даних рН крові та МСМ/254 у БАЗ показав наявність негативного взаємозв'язку середньої сили між досліджуваними показниками, який був значущим у 2-й ($r = -0,76$; $p < 0,01$) та 3-й ($r = -0,81$; $p < 0,01$) експериментальних групах. Респіраторний ацидоз, що розвинувся, сприяв лабілізації мембран лізосом, виходу в цитоплазму протеаз та протеолітичної деструкції тканини легень, у результаті чого підвищувалася інтенсивність пероксидного окиснення білків та ліпідів – основних чинників ендогенної інтоксикації. З іншого боку, накопичення в організмі ендотоксинів веде до порушень гемодинаміки, проникності мікросудин, функції дихальних ферментів, а також, на нашу думку, до метаболічного ацидозу на фоні деструктивних ушкоджень легень.

Виходячи з наведених даних, ендотоксикоз посідає одне з важливих місць у патогенезі ГУЛ, оскільки знижує функціональну активність регулювальних систем, ініціює процеси пероксидації, зумовлює накопичення їх дериватів, інших метаболітів із наступною дестабілізацією окиснювального фосфорилування, порушенням функціонування клітинних мембран та розвиток поліорганної недостатності.

Дослідження клітинного імунітету показало не однозначні результати у крові та БАЗ. Зокрема, у крові експериментальних тварин з ГУЛ протягом перших 24 год не було виявлено різницю між контрольною і дослідними групами. Натомість у БАЗ були отримані зміни іншого характеру. При цьому встановлено вищі рівні загальних Т-лімфоцитів, Т-хелперів і Т-супресорів у 4-й і 5-й дослідних групах ($p < 0,001$), але співвідношення CD4/CD8 практично не відрізнялося від даних контролю у всіх експериментальних групах. Це підтверджує можливий Т-залежний механізм ініціації ГУЛ.

Аналіз динаміки показників гуморального імунітету показав зростання рівня В-лімфоцитів (CD19+) на 11,5 % у 2-й групі, порівняно з контролем ($p < 0,05$), на 11,3 % у 3-й групі, проти даних 2-ї ($p < 0,01$) та на 20,9 % у 4-й дослідній групі, відповідно до попередньої ($p < 0,001$).

Уміст Ig A у тварин із ГУЛ зростав вже на 2-гу год експерименту на 65,4 % відносно даних

контролю ($p < 0,01$), а через 6 год рівень даного показника був більший на 23,7 % проти 2-ї дослідної групи ($p < 0,05$) і вдвічі – стосовно даних контрольної групи та залишався високим до кінця першої доби ($p < 0,001$). Водночас, уміст Ig G був вищим через 2 год на 29,7 % відносно даних контролю ($p < 0,01$) і через 6 год – на 24,6 % проти 2-ї дослідної групи ($p < 0,01$), а в 4-й та 5-й дослідних групах статистично не відрізнявся від результатів 3-ї експериментальної групи. Встановлений рівень імуноглобулінів у сироватці крові щурів відображає реакцію первинних та вторинних лімфоїдних органів на фактори ендогенної інтоксикації. Відсутні зміни вмісту Ig M у тварин із ГУЛ протягом 24 год експерименту можуть свідчити про підвищене споживання його в результаті зв'язування з комплементом.

Уміст ЦК у сироватці крові щурів усіх груп спостереження зростав у часі. Досліджуваний показник через 24 год від початку експерименту був більшим в 1,7 раза проти його значення в контролі ($p < 0,001$), що вказує на гіперреактивність В-клітин, а також на порушення механізмів елімінації ЦК. Потрібно зауважити, що зростання ЦК може бути непрямом ознакою активації комплементу, який веде до пошкодження тканин.

Адекватна імунна відповідь базується на балансі клітинно-опосередкованих та гуморальних імунних реакцій, розвиток яких підтримується та регулюється цитокинами. При ГУЛ, модельованому інтратрахеальним уведенням HCl, спостерігаються односпрямовані зміни в сироватці крові концентрації прозапальних IL-1 β , IL-6 та IL-8, що спричиняє поглиблення реакцій системного запалення внаслідок активації і дегрануляції нейтрофільних гранулоцитів (рис. 4). Підвищена концентрація IL-8 у сироватці крові при ГУЛ відіграє певну роль у міграції нейтрофілів у легені, зумовлює інтегрин-опосередковану адгезію нейтрофілів до ендотелію, стимулює полімеризацію актину нейтрофілів (S. Chollet-Martin; 1993).

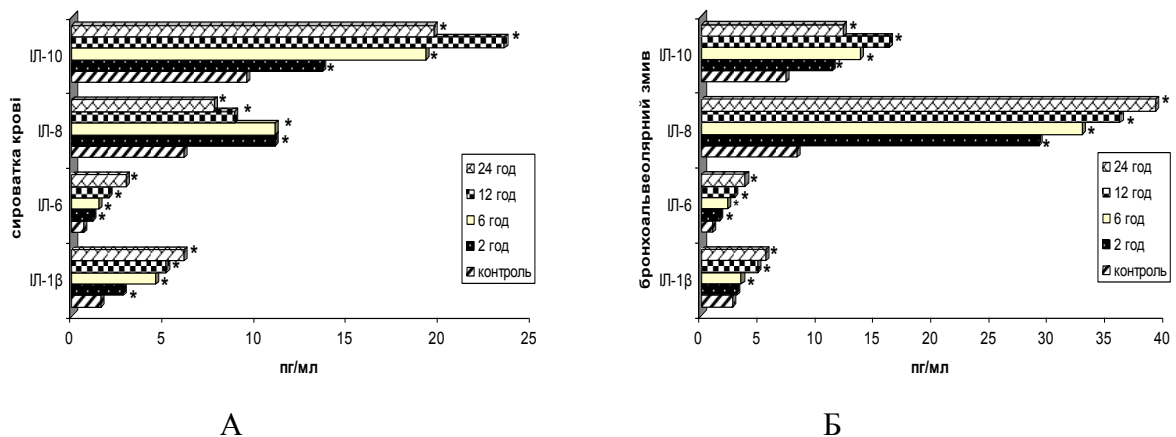


Рис. 4. Динаміка про- та протизапальних цитокинів у сироватці крові (А) і бронхоальвеолярному змиві (Б) щурів при гострому ураженні легень.

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

Встановлене збільшення продукції ІЛ-10 у перші 12 год експерименту може бути обумовлене викидом катехоламінів та глюкокортикоїдів у відповідь на стрес, індукований уведенням НСІ. До кінця першої доби моделювання ГУЛ відмічалось виснаження протизапальних властивостей, що проявлялося зниженням концентрації ІЛ-10.

Аналіз динаміки прозапальних цитокінів у БАЗ показав, що концентрація ІЛ-1 β через добу була більшою практично вдвічі ($p < 0,001$), а ІЛ-6 – майже вчетверо ($p < 0,001$), причому відбувалося поступове їх зростання упродовж 24-х годин. Слід відмітити, що більшість прозапальних ефектів у БАЗ при ГУЛ належать ІЛ-1 β , який ініціює активацію НГ, міграцію їх у вогнище ураження, опосередковано зумовлює надмірну генерацію АФК. Розвиток набряку при ГУЛ теж належить ІЛ-1 β , який впливає на епітеліальні натрієві канали, порушуючи транспорт рідини, зумовлює підвищення проникності білків у легенях. Концентрація ІЛ-8 протягом часу спостереження перевищувала дані контрольної групи у 4,7 раза, при цьому максимально високу величину відмічено на 2-у год.: (29,11 \pm 0,61) пг/мл проти (8,28 \pm 0,22) пг/мл у контролі.

Щодо протизапального цитокіна ІЛ-10 при ГУЛ встановлено, що протягом перших 12-ти год його концентрації зростає майже вдвічі відносно контрольної групи, що сповільнює надмірну продукцію прозапальних інтерлейкінів, знижує продукцію супероксид-аніонів, проте цей механізм виснажився вже через добу спостереження (рис. 4).

Аналіз кореляційних зв'язків між ІЛ-1 β , ІЛ-6 і ІЛ-8 показав позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між концентрацією досліджуваних цитокінів у 3-й (ІЛ-1 β /ІЛ-8 – $r=0,77$; ІЛ-6/ІЛ-8 – $r=0,61$; $p < 0,01$) та 4-й (ІЛ-1 β /ІЛ-8 – $r=0,85$; ІЛ-6/ІЛ-8 – $r=0,66$; $p < 0,01$) дослідних групах у БАЗ, що підтверджує припущення про те, що ІЛ-1 β при аспіраційному ГУЛ є ініціатором цитокінового каскаду, зокрема ІЛ-8 та ІЛ-6, опосередковано зумовлює надмірну генерацію АФК. Встановлена також пряма залежність між активністю вільнорадикального окиснення, зниженням антиоксидного захисту та ініціацією запального процесу в патогенезі ГУЛ.

Вважається, що основою синдрому ГУЛ є неспецифічна запальна реакція на рівні мікросудин легень із порушенням легеневого гомеостазу, яка ініціюється активацією НГ крові, що частково вивчено в клінічних та експериментальних дослідженнях (Е. Abraham, 2003, В.Н. Segal, 2007). Як свідчать проведені нами дослідження, у крові експериментальних тварин 2-ї дослідної групи загальна кількість лейкоцитів була нижча в 1,7 раза ($p < 0,01$), при цьому НГ перевищували на 29,0 % показники контрольної групи. У той же час, у БАЗ через 2 год від початку ГУЛ відмічався як виражений лейкоцитоз (загальна кількість лейкоцитів зросла в 1,92 раза; $p < 0,01$), так і нейтрофільний гранулоцитоз ($p < 0,01$). ГУЛ, яке тривало 6 год, зумовило прогресування процесів у БАЗ, що виникли в перші години легеневого пошкодження НСІ. Ця фаза проявлялася гострою запальною відповіддю і була опосередкована НГ. При цьому в крові спостерігалася виражена лейкопенія з підвищеним відсотком НГ порівняно з 2-ю дослідною групою. При аналізі клітинного

складу БАЗ 4-ї групи відмічено підвищення загальної кількості лейкоцитів та виражений НГ ($2,12 \pm 0,14$)· 10^9 /л, який у 3,5 раза достовірно перевищував показники 3-ї групи, тоді як у крові продовжувалося зменшення відносної кількості НГ при статистично незначущій зміні їх абсолютної кількості. Через добу спостереження загальна кількість лейкоцитів зросла при відносному та абсолютному зниженні НГ у крові, а в БАЗ загальний рівень лейкоцитів залишався високим за рахунок НГ.

Розвиток і прогресування ГУЛ певним чином залежить від активності нейтрофілів, які продукують АФК. Аналіз динаміки рівня АФК у НГ показав, що у плазмі крові та в БАЗ щурів з НСІ-індукованим ГУЛ їх відсоток практично відразу зріс, причому такий високий рівень був в усіх групах протягом 24 год експерименту (рис. 5). Співставляючи рівень АФК НГ у плазмі крові та БАЗ встановили, що зміни кисневих радикалів відбуваються односпрямовано в бік поглиблення оксидативного стресу. Найбільш значуще зростання АФК як у крові, так і в БАЗ відмічено через 2 год спостереження.

Легені внаслідок розвинутого русла мікроциркуляції на тлі підвищеної здатності НГ до кисеньзалежного метаболізму можуть виступати як орган ураження першої лінії за умов секвестрації у легеневих мікросудинах активованих НГ та генерації ними АФК, оксиду азоту, що ініціює процеси пероксидації на рівні базальних мембран альвеол та легеневих капілярів, зумовлює функціональні порушення клітин і, як наслідок, їх загибель у результаті розвитку оксидативного стресу.

Проведений кореляційний аналіз показав, що рівень АФК НГ у щурів із ГУЛ мав високий ступінь негативного зв'язку з рівнем рН артеріальної крові в 2-й і 3-й дослідних групах ($p < 0,05$) у плазмі крові та в БАЗ. Порушення метаболізму, що виникають при гіпоксії, зумовлюють зростання рівня АФК.

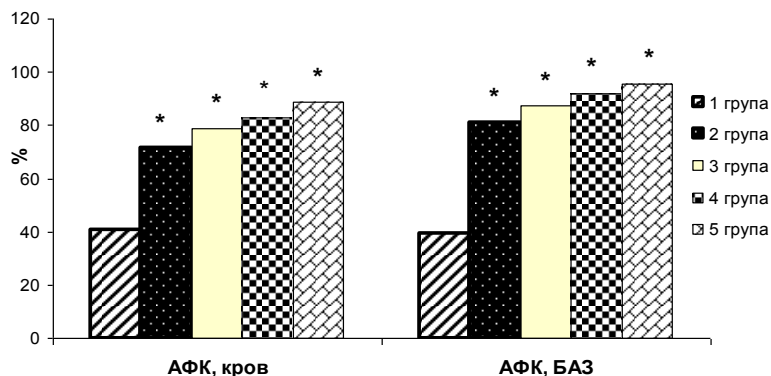


Рис. 5. Рівень активних форм кисню нейтрофільних гранулоцитів плазми крові та бронхоальвеолярного змиву щурів при гострому ураженні легень (* – достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами).

Привертають увагу різні кореляційні зв'язки у крові та БАЗ між рівнем АФК НГ і загальною кількістю лейкоцитів, що, напевно, обумовлене більш вираженими патологічними змінами на місцевому рівні. Так, у 3-й, 4-й і 5-й дослідних групах рівень загальної кількості лейкоцитів ($r=0,82-0,75-0,87$; $p<0,01$), як і абсолютна кількість НГ ($r=0,71-0,70-0,76$; $p<0,01$), позитивно корелювали з АФК у БАЗ, тоді як у плазмі крові не виявлено взаємозв'язку між АФК та лейкоцитами. Отримані дані вказують на те, що при аспіраційному ГУЛ у легенях більш виражений оксидативний стрес.

Аналіз динаміки $\Delta\psi$ НГ показав, що при ГУЛ у крові експериментальних тварин 2-ї групи зросла кількість НГ зі зниженим $\Delta\psi$ до $(3,48\pm 0,13)$ % порівняно з даними контролю $(1,38\pm 0,07)$ % ($p<0,001$), причому такий високий рівень клітин зі зниженим $\Delta\psi$ відмічався протягом 24 год спостереження. У БАЗ відсоток клітин зі зниженим $\Delta\psi$ вчетверо зріс уже на 2-гу год експерименту. Слід відмітити, що кількість НГ зі зниженим $\Delta\psi$ у БАЗ була високою у всіх групах спостереження (рис. 6).

Проведений кореляційний аналіз даних $\Delta\psi$ НГ крові та БАЗ показав, що рівень клітин зі зниженим $\Delta\psi$ в крові у щурів з ГУЛ мав сильний позитивний кореляційний зв'язок з цим же показником у БАЗ у 2-й ($r=0,72$, $p<0,01$) та 4-й ($r=0,83$; $p<0,01$) експериментальних групах і позитивний кореляційний зв'язок середньої сили в 3-й дослідній групі ($r=0,67$; $p<0,05$), що свідчить про значущу рівноспрямованість змін у крові та БАЗ.

Причиною зниження $\Delta\psi$ при ГУЛ у тварин може бути також ФНП- α , який стимулює утворення ейкозаноїдів, а ті інгібують мітохондріальну СОД, що зумовлює накопичення супероксид-аніонів і пошкодження мітохондріальної мембрани (N. Mittal, 2012).

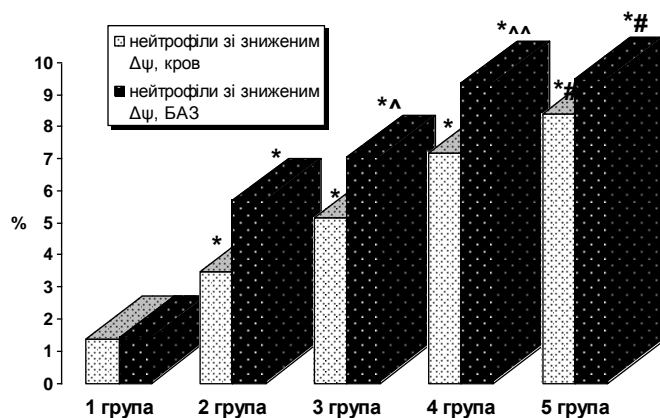


Рис. 6. Кількість нейтрофілів зі зниженим мітохондріальним трансмембранним потенціалом у крові та бронхоальвеолярному змиві щурів при гострому ураженні легень (*– достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами; ^ – достовірність відмінностей між 2-ю і 3-ю групами, ^^ – достовірність відмінностей між 3-ю і 4-ю групами, # – достовірність відмінностей між 4-ю і 5-ю групами).

Проведене нами дослідження показало, що при ГУЛ у сироватці крові експериментальних тварин 2-ї дослідної групи концентрація ФНП- α була вища від контролю у 4,8 раза, через 6 год була менша у 3,1 раза стосовно 2-ї групи і практично не змінилася у 4-й і 5-й дослідних групах. На відміну від сироватки крові, у БАЗ концентрація ФНП- α зросла приблизно у 9 разів ($p_1 < 0,001$) протягом всього періоду експерименту (через 2, 6, 12 і 24 години) (табл. 2).

Таблиця 2

Зміна концентрації фактору некрозу пухлин- α у сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві в щурів при гострому ураженні легень ($M \pm m$)

Показник	Контроль (n=12)	Експериментальні групи			
		II (n=12)	III (n=12)	IV (n=12)	V (n=12)
ФНП- α , пг/мл (кров)	11,54 \pm 0,40	55,15 \pm 0,84 $p_1 < 0,001$	17,70 \pm 2,21 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$	13,23 \pm 2,00 $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$	14,339 \pm 1,56 $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$
ФНП- α , пг/мл (БАЗ)	1,71 \pm 0,13	14,27 \pm 0,44р $p_1 < 0,001$	16,21 \pm 0,83р $p_1 < 0,001$	15,20 \pm 1,09р $p_1 < 0,001$	15,40 \pm 1,46 $p_1 < 0,001$

Примітки:

1. p_1 – достовірність відмінностей стосовно контрольних тварин;
2. $p_{2,3,4}$ – достовірність відмінностей стосовно уражених тварин відповідно на 6, 12 і 24 години ГУЛ.

Для глибшого дослідження ролі системи ФНП- α було проведено визначення кількості НГ крові та БАЗ, що несуть ФНП-R1. Виявлено, що при НСІ-індукованому ГУЛ відсоток НГ, які несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП типу 1 зріс у крові та в БАЗ (рис. 7). У крові відсоток ФНП-R1 був більшим майже в 5,0 разів вже на 2-гу годину експериментального моделювання ГУЛ, порівняно з контрольною групою, і практично не змінювався протягом всього періоду спостереження. Зовсім інша картина виявилась у БАЗ. Так, у 2-й дослідній групі рівень ФНП-R1 у БАЗ зріс у 10,7 раза порівняно з контролем ($p < 0,001$). Через 6 год рівень ФНП-R1 був вищий на 16,3 %, відносно даних 2-ї дослідної групи, через 12 год – на 17,1 %, стосовно результатів 3-ї групи і через 24 год моделювання ГУЛ – на 15,7 % порівняно з 4-ю експериментальною групою (рис. 7).

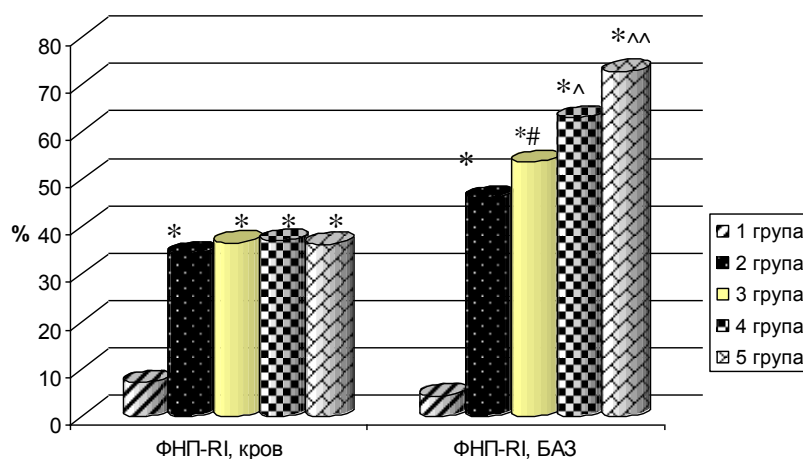


Рис. 7. Рівень ФНП-R1 у крові та бронхоальвеолярному змиві щурів при гострому ураженні легень у динаміці (* – різниця показників у крові і БАЗ, достовірна порівняно з контрольними тваринами ($p < 0,001$); # – достовірність відмінностей між 2-ю і 3-ю дослідними групами, ^ – достовірність відмінностей між 3-ю і 4-ю дослідними групами, ^^ – достовірність відмінностей між 4-ю і 5-ю дослідними групами ($p < 0,01$))

Встановлені дані вказують на відмінність перебігу патологічних процесів на системному та місцевому рівнях. Так, у БАЗ великий відсоток ФНП-R1 пов'язаний, імовірно, з необхідністю нейтралізувати цитотоксичну активність ФНП- α шляхом зв'язування його з рецепторами. Високий уміст у крові щурів ФНП-R1 у першу фазу ГУЛ може бути розцінений як адаптивна відповідь на підвищення активності ФНП- α .

Окисаційний стрес, виснаження антиоксидного захисту, гіперпродукція прозапальних цитокінів, зміни клітинної і гуморальної ланок імунної системи, порушення мітохондріального дихання внаслідок зниження трансмембранного потенціалу мітохондрій, дисбаланс системи ФНП- α індукують розвиток апоптозу (Б.Н. Лю, 2005).

Дослідження деструктивних змін у клітинах крові щурів при ГУЛ показало більшу на 146,7 % кількість НГ з явищами раннього апоптозу в 2-й групі, порівняно з даними контролю ($p < 0,001$). Проте, вже в 3-й групі рівень НГ з ознаками раннього апоптозу був нижчим на 43,2 % і не відрізнявся від результатів контролю в 4-й і 5-й дослідних групах.

Проводячи аналіз кількості НГ з явищами раннього апоптозу у гомогенаті легень і БАЗ щурів із спричиненим хлоридною кислотою ГУЛ встановили, що їх відсоток рівноспрямовано зріс протягом часу спостереження.

Дослідження рівня НГ з ознаками пізнього апоптозу або некрозу в крові показало, що у 2-й дослідній групі даний показник зріс на 210,0 % порівняно з контролем ($p < 0,001$), практично не змінювався у 3-й дослідній групі, був меншим у 4-й і 5-й групах відносно 3-ї групи.

Аналіз рівня НГ з ознаками пізнього апоптозу або некрозу в гомогенаті легень і БАЗ щурів із ГУЛ показав, що їх відсоток односпрямовано зріс протягом 12 год спостереження ($p < 0,001$) і був високим до кінця доби (табл. 2).

Таблиця 2

Зміна рівня апоптозу нейтрофілів крові, бронхоальвеолярного змиву та гомогенату легень у щурів при гострому ураженні легень, ($M \pm m$)

Показник	Контроль (n=10)	Експериментальні групи			
		2 (n=12)	3 (n=12)	4 (n=12)	5 (n=12)
Рівень нейтрофілів з явищами раннього апоптозу, % (кров)	0,45±0,03	1,11±0,10 $p_1 < 0,001$	0,63±0,0 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	0,59±0,10 $p_1 > 0,05$ $p_3 > 0,05$	0,60±0,07 $p_1 > 0,05$ $p_4 > 0,05$
Рівень нейтрофілів з явищами пізнього апоптозу або некрозу, % (кров)	0,50±0,06	1,05±0,08 $p_1 < 0,001$	1,01±0,06 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	0,74±0,05 $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	0,63±0,07 $p_1 > 0,05$ $p_4 > 0,05$
Рівень нейтрофілів з явищами раннього апоптозу, % (гомогенат легень)	0,51±0,02	1,31±0,13 $p_1 < 0,001$	2,38±0,11 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$	6,42±0,49 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	8,34±0,30 $p_1 < 0,001$ $p_4 > 0,05$
Рівень нейтрофілів з явищами пізнього апоптозу або некрозу, % (гомогенат легень)	0,52±0,09	2,13±0,10 $p_1 < 0,001$	3,23±0,14 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	3,94±0,08 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,01$	3,90±0,10 $p_1 < 0,001$ $p_4 > 0,05$
Рівень нейтрофілів з явищами раннього апоптозу, % (БАЗ)	0,61±0,05	1,56±0,13 $p_1 < 0,001$	2,41±0,15 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$	6,53±0,46 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	8,65±0,30 $p_1 < 0,001$ $p_4 > 0,05$
Рівень нейтрофілів з явищами пізнього апоптозу або некрозу, % (БАЗ)	0,49±0,10	1,91±0,05 $p_1 < 0,001$	3,02±0,07 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	3,80±0,08 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	3,74±0,07 $p_1 < 0,001$ $p_4 > 0,05$

Примітки:

1. p_1 – різниця достовірна у порівнянні з контрольними тваринами;
2. p_2 – достовірність відмінностей між 2 і 3 дослідними групами .
3. p_3 – достовірність відмінностей між 3 і 4 дослідними групами
4. p_4 – достовірність відмінностей між 4 і 5 дослідними групами

Враховуючи значущі відмінності між показниками раннього і пізнього апоптозу або некрозу та для оцінки змін, що відбулися в легенях на рівні клітин за умов ГУЛ, ми порівняли дані показники між собою в БАЗ. Встановлено, що клітинна загибель шляхом раннього та пізнього апоптозу або некрозу в перші 2 год відбувалася в однаковій мірі, проте у 3-й дослідній групі спостерігалось переважне наростання пізнього апоптозу або некрозу, яке в 1,6 раза було більшим, ніж раннього апоптозу. Дана картина кардинально змінилась у 4-й експериментальній групі: в БАЗ переважали НГ з ознаками ранніх апоптичних змін, причому їх відсоток в 1,4 раза був вищим, ніж НГ з пізнім апоптозом або некрозом у 4-й групі, тоді як у 5-й експериментальній групі їх кількість в 1,9 раза перевищила рівень пізнього апоптозу або некрозу. При порівнянні рівнів пізнього апоптозу або некрозу нейтрофілів у щурів при ГУЛ також виявлено однакову спрямованість структурних змін гранулоцитів у гомогенаті легень і БАЗ, що відрізнялося від показників у крові в усіх групах спостереження ($p < 0,001$).

Виснаження ензимних і неензимних шляхів антиоксидантного захисту від АФК та накопичення останніх зумовлюють необоротне пошкодження макромолекул, зниження $\Delta\psi$, вихід у цитозоль цитохрому С, іонів кальцію та проапоптичних факторів, які зумовлюють швидку елімінацію функціонально неповноцінних клітин шляхом їх індукованої смерті.

Результати дослідження активності основної ефektorної молекули у «виконавчій» стадії апоптозу – каспази-3 – представлено на рис. 8.

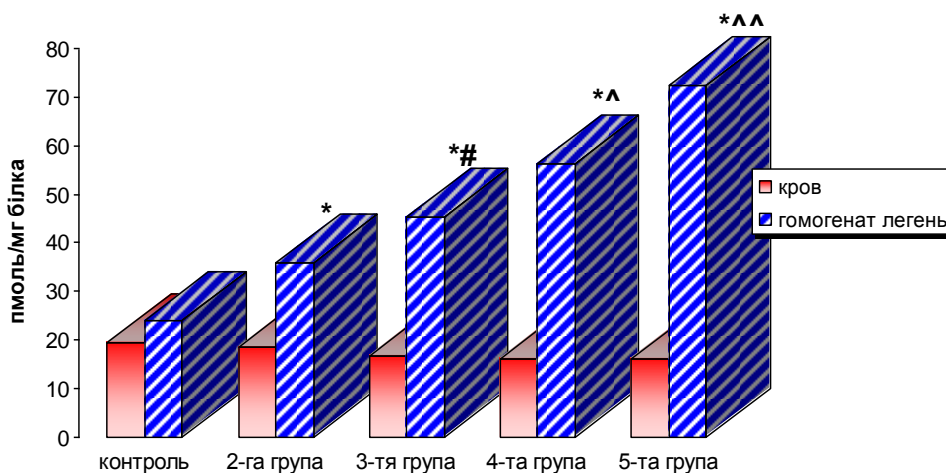


Рис. 8. Співставлення активності каспази-3 в плазмі крові та гомогенаті легень щурів при гострому ураженні легень (* - різниця показників у крові і БАЗ, достовірна порівняно з контрольними тваринами ($p < 0,001$); # – достовірність відмінностей між 2-ю і 3-ю дослідними групами; ^ – достовірність відмінностей між 3-ю і 4-ю дослідними групами; ^^ – достовірність відмінностей між 4-ю і 5-ю дослідними групами ($p < 0,05$))

Ці результати демонструють, що при ГУЛ у крові експериментальних тварин активність даної протеїнази практично не змінювалася протягом усього періоду спостереження, порівняно з даними контролю ($p > 0,05$), тоді як у гомогенаті легень вона рівномірно зростає впродовж терміну спостереження.

Це свідчить про різницю реалізації індукованої загибелі клітин, що може бути обумовлено, по-перше, різним рівнем проапоптогенних сигналів у крові та легенях, по-друге, різною кількістю клітин, що несуть на собі апоптогенні рецептори.

Встановлено, що в ініціації першого етапу апоптозу на тлі спричиненого НСІ ГУЛ відіграють система ФНП- α та реакції вільнорадикального окиснення. Виявлено виражений проапоптичний ефект ФНП- α , який вказує на те, що чим більша кількість НГ мають на своїй поверхні ФНП-R1, тим імовірніше їх залучення в апоптоз. Також знижується $\Delta\psi$ мітохондрій, що приводить до роз'єднання процесів дихання і окисного фосфорилування, підвищуючи кількість внутрішньоклітинних АФК, що, у цілому, веде до необоротних змін у клітині.

ГУЛ у щурів, яким інтратрахеально вводили НСІ, вже через 2 год морфологічно проявлялося повнокрів'ям міжальвеолярних перетинок, набряклістю, інфільтрацією лімфогістіоцитами, еритроцитами та нейтрофільними гранулоцитами з вогнищевими скупченнями сегментоядерних лейкоцитів; вираженими дистрофічними змінами поверхневого епітелію дрібних бронхів, скупченням секрету або злушеного епітелію в просвіті деяких із них, розширенням альвеол й емфізематозними змінами легеневої тканини (рис. 9, 10).

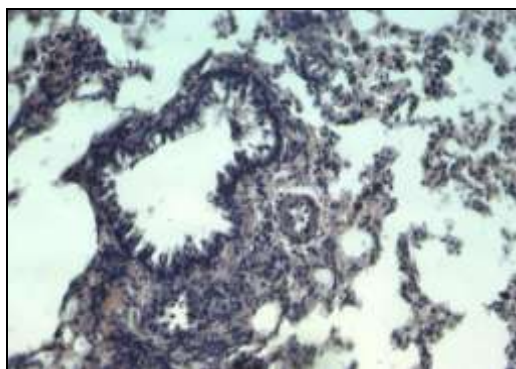


Рис. 9. Помірна дилатація перибронхіальних судин, периваскулярний набряк та незначна клітинна реакція в щурів із ГУЛ 2-ї дослідної групи. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

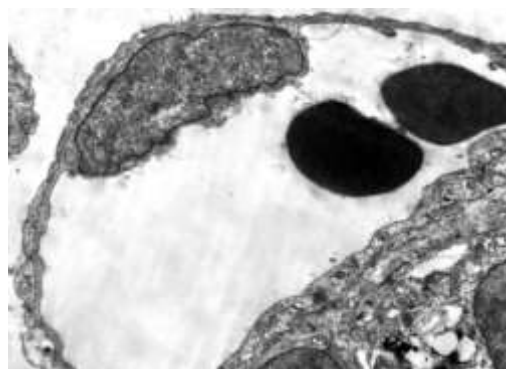


Рис. 10. Ультраструктура альвеоли щурів із ГУЛ 2-ї дослідної групи. Широкий просвіт гемокапіляра з еритроцитами, ядро ендотеліюцита, тонкий аерогематичний бар'єр, ділянка його набряку. $\times 5000$.

У судинах легеневого мікроциркуляторного русла розвивалося повнокрів'я, формувались складжі. Зі збільшенням тривалості процесу до кінця першої доби наростав набряк легень, потовщення міжальвеолярних перетинок, що веде до прогресування гіпоксії (рис. 11, 12).

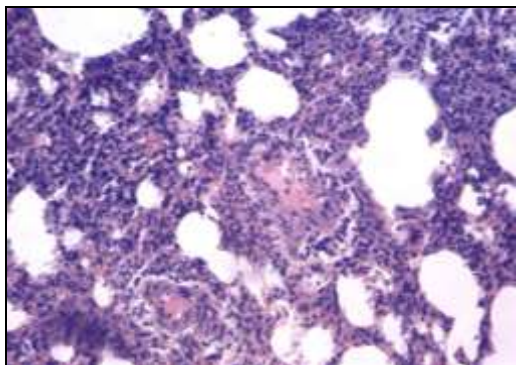


Рис. 11. Гістологічна структура легеневої тканини щура 5-ї групи. Потовщення міжальвеолярних перетинок за рахунок дифузної лімфогістіоцитарної інфільтрації та розширення і повнокров'я дрібних судин. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

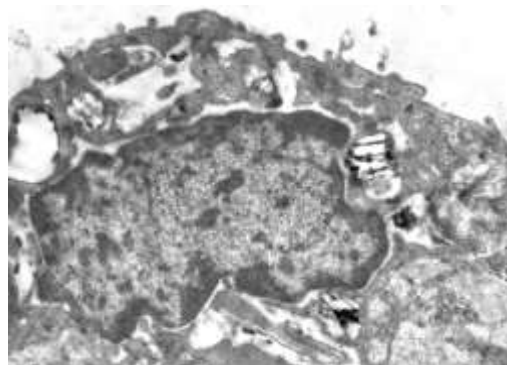


Рис. 12. Субмікроскопічні зміни альвеолоцита II типу щура 5-ї групи. Неправильної форми ядро, значні перинуклеарні простори, пластинчасті тільця, апікальна ділянка з окремими мікроворсинками. $\times 12\ 000$.

Зміни морфометричних параметрів тканини легень за умов їх гострого ураження підтверджували і доповнювали характер морфофункціональної перебудови легеневої паренхіми, елементів бронхіального дерева та кровоносного русла в умовах зазначеної патології залежно від тривалості перебігу патологічного процесу (табл. 3).

Таблиця 3

Морфометричні показники тканини легень при експериментальному гострому ураженні легень ($M \pm m$)

Морфометричні показники	Групи спостережень				
	I (n=12)	II (n=12)	III (n=12)	IV (n=12)	V (n=12)
ШМП, мкм	23,8 \pm 3,4	26,1 \pm 3,1	31,7 \pm 3,9	38,0 \pm 4,5 [#]	40,3 \pm 4,6 ^{**/#}
ОЧПІ, %	21,5 \pm 2,8	30,1 \pm 3,0 [*]	19,7 \pm 2,2	17,4 \pm 1,8 ^{###}	14,1 \pm 1,7 ^{*/###}
ВТСБ, %	14,7 \pm 1,7	16,9 \pm 1,6	18,3 \pm 2,0	21,1 \pm 1,9 [*]	19,5 \pm 2,4
ВПКС, %	9,7 \pm 1,0	20,9 \pm 2,3 ^{***}	6,4 \pm 0,7 ^{*/###}	8,3 \pm 0,9 ^{###}	17,2 \pm 2,0 ^{**}
ВТСС, %	13,1 \pm 0,9	11,0 \pm 0,7	15,3 \pm 1,1	15,9 \pm 1,3 ^{##}	11,9 \pm 0,9

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ (порівняно з контрольною групою); # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ (порівняно з II-ю дослідною групою).

Зокрема, ширина міжальвеолярних перегородок збільшувалася відносно 2-ї досліджуваної групи на 21,4 %, 45,6 % та 54,4 % у 3-й, 4-й і 5-й групах відповідно, у двох останніх групах відмінності носили статистично достовірний характер ($p < 0,05$).

Суттєвих перебудов зазнали й відносні показники. Так, ОЧПП прогресивно зменшувалася. Різниця складала 10,4 % через 6 год експерименту, 12,7 % – через 12 год, 16,0 % – через 24 години. Знову ж таки, відмінність була достовірною в 4-й ($p < 0,01$) та 5-й групах ($p < 0,001$). ВТСБ була максимально високою у 4-й дослідній групі – вона на 4,2 % перевищувала показники 2-ї групи. Для 3-ї групи прогресія становила 1,4 %, для 5-ї групи – 2,6 %. ВПКС через 6 год зменшилася відносно найбільш ранніх термінів експерименту, а потім поступово наростала, однак при цьому не досягаючи значень, зареєстрованих на 2 год досліджу. ВТСС через 6 і 12 год після моделювання ГУЛ була на 4,3 % та 4,9 % більшою, ніж через 2 години. В останньому випадку мала місце статистично достовірна відмінність ($p < 0,01$).

Комплексна оцінка отриманих результатів дає підстави дійти висновку, що пошкодження легень, індуковане інтратрахеальним уведенням HCl, обумовлене гетерогенними порушеннями перфузії та альвеолярної вентиляції, які наростають в міру прогресування захворювання. Морфологічні зміни у респіраторному відділі легень при гострому ураженні легень реалізуються комплексом дистрофічних і деструктивних змін структур аерогематичного бар'єру.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної наукової проблеми – з'ясування закономірностей розвитку експериментального гострого ураження легень на підставі дослідження змін системного і легеневого гомеостазу, а також визначення ролі метаболічних, імунних, цитокінових і некротично-апоптичних факторів у формуванні даного синдрому.

1. При експериментальному гострому ураженні легень у перші 6 годин розвивається гострий респіраторний ацидоз із зростанням pCO_2 на 21,7 % ($p < 0,001$), зниженням рівня рН на 2,0 % ($p < 0,01$), насичення крові киснем (pO_2 та pO_2/FiO_2 на 125,3 %, $p < 0,001$) та ефективності оксигенації (приріст $AaDO_2$ в 7,5 раза, $p < 0,001$), що обумовлено наростанням набряку легень (збільшення W/D ratio у 2,2 раза, $p < 0,001$). Через 12 годин експерименту зростання рН артеріальної крові, незначне зниження pCO_2 та підвищення pO_2 свідчать про тимчасову компенсацію дихального ацидозу, яка до кінця першої доби виснажується з наростанням явищ артеріальної гіпоксемії, збільшенням частоти дихання та відхиленнями на рівні регуляції центральної і периферійної гемодинаміки.

2. Експериментальне гостре ураження легень активує процеси пероксидного окиснення ліпідів у тканинах легень через 2 години після пошкодження, що проявляється підвищенням рівня

дієнових і трієнових кон'югатів (у середньому на 45,0 %), продуктів тіобарбітурової кислоти (на 32,0 %), $p < 0,001$. У наступні терміни інтенсивність ліпопероксидації зростає, про що свідчить збільшення вмісту її первинних і вторинних продуктів у сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві ($p < 0,001$). На фоні гострого ураження легень у щурів відбувається перерозподіл (зростання загальної кількості лейкоцитів та гранулоцитів у бронхоальвеолярному змиві протягом доби ($p < 0,001$)) та активація нейтрофілів, що підвищує їх здатність генерувати активні форми кисню через 2 години у 2,1 раза в змиві й у 1,8 раза – у крові.

3. Метаболіти оксиду азоту та модифіковані білкові молекули на початкових етапах гострого ураження легень в однаковій мірі у крові та тканинах легень виступають ендogenous антиоксидантами, сприяючи відновленню оксидного потенціалу клітини за рахунок активації супероксиддисмутази, про що свідчить позитивна кореляція між її активністю та показниками нітрит-аніону у крові ($r=0,43$; $p < 0,05$) і гомогенаті легень ($r=0,45$; $p < 0,05$) й 2,4-днітрофенілгідрозонами у крові ($r=0,43$; ($p < 0,05$) та гомогенаті легень ($r=0,51$; $p < 0,05$) через 2 год експерименту. В умовах наростання оксидатійного стресу відбувається підвищення вмісту альдегідо- і кетонпохідних нейтрального й лужного характеру та збільшення концентрації нітрит-аніону, які стають додатковим джерелом вільних радикалів.

4. Надмірне утворення продуктів вільнорадикального окиснення у щурів за умови гострого ураження легень активує антиоксидну систему в початковому періоді пошкодження з поступовим її виснаженням через 12 годин, що проявляється зниженням активності супероксиддисмутази, каталази в сироватці крові й гомогенаті легень та церулоплазміну у сироватці крові до кінця першої доби ($p < 0,001$). Неферментна ланка антиоксидантної системи, представлена SH-групами, як і загальна антиоксидантна активність зменшуються ($p < 0,001$), що свідчить про недостатність як ферментних, так і неферментних механізмів антиоксидантного захисту через 24 години гострого ураження легень.

5. Експериментальне гостре ураження легень супроводжується гіперпродукцією прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β у 2,1 раза, ІЛ-6 у 4,0 раза, ІЛ-8 у 4,7 раза) у бронхоальвеолярному змиві ($p < 0,001$) та (відповідно у 2,6 раза, 4,7 раза, 1,3 раза) у сироватці крові ($p < 0,05$) впродовж першої доби пошкодження, що може відігравати важливу роль в ініціації та розвитку даного процесу. Концентрація протизапального ІЛ-10 протягом перших 12-ти годин зростає у 2,2 раза у бронхоальвеолярному змиві й у 2,5 раза – у сироватці крові ($p < 0,001$) та знижується через 24 години від початку гострого ураження легень ($p < 0,01$).

6. Гостре ураження легень змінює відповідь клітинної і гуморальної ланок імунної системи, що проявляється збільшенням через 2 години кількості В-лімфоцитів на 11,5 % ($p < 0,05$), імуноглобулінів класів А і G в 1,7 раза ($p < 0,01$) та 1,3 раза ($p < 0,01$) відповідно, циркулюючих імунних комплексів в 1,2 раза ($p < 0,05$) та після 12 годин – зростанням кількості лімфоцитів у

бронхоальвеолярному змиві із фенотипом CD4+ і CD8+ в середньому на 13,0 % ($p < 0,05$). Гостре ураження легень супроводжується ендогенною інтоксикацією, яка наростає до кінця першої доби, при цьому її показники вищі у бронхоальвеолярному змиві, ніж у крові ($p < 0,05$).

7. Гостре ураження легень зумовлює істотне зростання у щурів рівня раннього апоптозу нейтрофільних гранулоцитів у середньому у 2,5 раза через 2 години у крові, бронхоальвеолярному змиві і гомогенаті легень ($p < 0,001$) та прогресуюче його збільшення у бронхоальвеолярному змиві у 14,2 раза ($p < 0,001$) і в 16,4 раза в гомогенаті легень ($p < 0,001$) до кінця першої доби. Кількість нейтрофільних гранулоцитів з ознаками пізнього апоптозу або некрозу односпрямовано зростає у гомогенаті легень і бронхоальвеолярному змиві в середньому в 7,5 раза на відміну від показників у крові ($p < 0,001$). Реалізація клітинної загибелі проявляється наростанням деструктивних змін нейтрофільних гранулоцитів за типом пізнього апоптозу або некрозу в перші 6 годин ураження з наступним сповільненням цих процесів та активацією раннього апоптозу, який досягає свого максимуму через 24 години гострого ураження легень.

8. Сигнальними шляхами ініціації апоптозу за умови гострого ураження легень у щурів є рецептор-опосередкований (пряма залежність між зростанням концентрації ФНП- α ($r = 0,71$; $p < 0,01$), відсотку нейтрофілів, які несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП типу 1 ($r = 0,61$; $p < 0,01$) та відсотку анексин-позитивних гранулоцитів у бронхоальвеолярному змиві через 6 годин), та мітохондріальний (позитивний взаємозв'язок між зниженням трансмембранного потенціалу мітохондрій ($r = 0,61$; $p < 0,01$) і накопиченням активних форм кисню ($r = 0,64$; $p < 0,01$) та збільшенням анексин-позитивних нейтрофілів через 2 години). Реалізатором апоптозу при експериментальному гострому ураженні легень є каспаза-3, активність якої зростає в гомогенаті легень через 2 години в 1,5 раза ($p < 0,01$) і до кінця першої доби перевищує в 3 рази показники контролю ($p < 0,001$).

9. При експериментальному гострому ураженні легень до кінця першої доби потовщуються міжальвеолярні перетинки в 1,7 раза ($p < 0,001$), розвивається набряклість, інфільтрація лімфогістіоцитами, еритроцитами та нейтрофільними гранулоцитами, виражені дистрофічні зміни поверхневого епітелію дрібних бронхів, розширення альвеол й емфізематозна зміна легеневої тканини, що зумовлює зменшення об'ємної частки пневматизованого простору легеневої тканини на 34,4 % ($p < 0,001$). Морфологічні зміни у респіраторному відділі легень при їх ураженні реалізуються комплексом дистрофічних і деструктивних змін структури аерогематичного бар'єру.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. НСІ-індукований гострий респіраторний дистрес-синдром / А. А. Гудима, М. І. Марущак, Г. Г. Габор, Т. В. Дацко, А. В. Доброродній // Здобутки клінічної і

експериментальної медицини. – 2010. – № 2 (13). – С. 39–42. (Здобувач самостійно провела експеримент, оформила статтю).

2. Марущак М. І. Зміни газового складу крові при експериментальному гострому ураженні легень у динаміці / М. І. Марущак // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2011. – № 1 (14). – С. 75–78.

3. Грищук Л. А. Динаміка перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в щурів за умов гострого ураження легень / Л. А. Грищук, М. І. Марущак // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2011. – № 2 (05). – С. 16–20. (Здобувач самостійно провела експеримент, оформила статтю).

4. Марущак М. І. Роль вільнорадикальних процесів та апоптозу нейтрофілів у щурів у фізіологічних умовах // Медична хімія. – 2011. – Т. 13, № 2 (47). – С. 32–36.

5. Марущак М. І. Особливості патогенетичних механізмів ендогенної інтоксикації та гуморального імунітету при експериментальному гострому ураженні легень / М. І. Марущак // Вісник наукових досліджень. – 2011. – № 3 (64). – С. 108–112.

6. Марущак М. І. Нітрокисдергічні аспекти патогенезу гострого ураження легень в експерименті / М. І. Марущак // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2011. – № 3 (06). – С. 82–86.

7. Патогенетична роль нейтрофільних гранулоцитів у розвитку гострого ураження легень / А. А. Гудима, М. І. Марущак, Г. Г. Габор, М. І. Куліцька // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т. 15, № 3 (59). – С. 17–21. (Здобувач самостійно спланувала і провела експеримент, статистично обробила результати, оформила статтю).

8. Марущак М. І. Морфологічні зміни респіраторного відділу легень при експериментальному гострому ураженні легень / М. І. Марущак, Я. Я. Боднар, Г. Г. Габор // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 176–178. (Здобувачу належить ідея, планування і проведення експерименту, аналіз та обробка результатів, оформлення висновків).

9. Марущак М. І. Роль нейтрофільного апоптозу в патогенезі експериментального HCl-індукованого гострого ураження легень / М. І. Марущак // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Т. 7, № 1. – С. 74–79.

10. Марущак М. І. Особливості центральної гемодинаміки в умовах експериментального гострого ураження легень / М. І. Марущак, А. А. Гудима, О. О. Костіна // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2012. – № 1, Т. 16. – С. 24–26. (Здобувач самостійно провела експеримент, реовазографію тваринам, оформила статтю).

11. Марущак М. І. Морфометричні аспекти структурно-функціональних змін легень за умов дії апоптоз-опосередкованих факторів їх гострого ураження / М. І. Марущак, М. Я. Фурдела // Вісник морфології. – 2012. – № 1, Т. 18. – С. 53–56. (Здобувач самостійно провела експеримент,

здійснила забір легеневої тканини для морфометричного дослідження, сформулювала висновки, оформила статтю).

12. Марущак М. І. Встановлення кореляційних зв'язків між рівнем активних форм кисню, вмістом нейтрофільних гранулоцитів та газовим складом крові при експериментальному гострому ураженні легень / М. І. Марущак // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». – 2012. – Випуск 1 (43). – С. 9–12.

13. Марущак М. І. Гістологічні зміни легеневої тканини при експериментальному гострому ураженні легень у динаміці / М. І. Марущак // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2012. – № 1 (16). – С. 87–90.

14. Марущак М. І. Роль активних форм кисню у розвитку і прогресуванні гострого ураження легень в експерименті / М. І. Марущак // Медична хімія. – 2012. – Т. 14, № 1 (50). – С. 104–108.

15. Марущак М. І. Особливості цитокінового профілю крові щурів з гострим ураженням легень / М. І. Марущак // Військова медицина України. – 2012. – Т. 12, № 1. – С. 55–59.

16. Марущак М. І. Метаболічні порушення у щурів з гострим ураженням легень / М. І. Марущак // Медична хімія. – 2012. – Т. 14, № 2 (51). – С. 99–103.

17. Марущак М. І. Електронно-мікроскопічне дослідження легень щурів за умови гострого ураження легень у динаміці / М. І. Марущак // Вісник наукових досліджень. – 2012. – № 2 (67). – С. 80–84.

18. Марущак М. І. Зміна трансмембранного потенціалу мітохондрій клітин крові та бронхоальвеолярного змиву при гострому ураженні легень в експерименті / М. І. Марущак // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2012. – № 2 (58). – С. 16–21.

19. Марущак М. І. Система фактору некрозу пухлин альфа в патогенезі експериментального гострого ураження легень / М. І. Марущак // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2012. – № 2 (09). – С. 57–61.

20. Марущак М. І. Закономірності змін цитокінового статусу в бронхоальвеолярному змиві щурів за умови гострого ураження легень / М. І. Марущак // Шпитальна хірургія. – 2012. – № 2 (58). – С. 39–42.

21. Марущак М. І. Кореляційні зв'язки рівня раннього апоптозу з показниками трансмембранного потенціалу мітохондрій та активними формами кисню в крові і бронхоальвеолярному змиві при експериментальному гострому ураженні легень / М. І. Марущак // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – Т. XI, № 2 (40). – С. 96–100.

22. Марущак М. І. Ультроструктурні зміни респіраторного відділу легень щурів на ранніх стадіях гострого ураження легень / М. І. Марущак, К. С. Волков, Н. І. Ярема // Вісник проблем

біології і медицини. – 2012. – Вип. 2, том 2 (93). – С. 202–205. (Здобувач самостійно спланувала і провела експеримент, оформила статтю).

23. Марущак М. І. Каспазний механізм активації апоптозу в патогенезі HCl-індукованого гострого ураження легень в експерименті / М. І. Марущак, Л. А. Грищук, Н. І. Ярема // Експериментальна і клінічна медицина. – 2012. – № 2 (55). – С. 9–13. (Здобувачу належить планування і проведення експерименту, аналіз та обробка результатів, написання розділу статті «результати та їх обговорення»).

24. Пат. № 63892 Україна, МПК (2011.01) А 61 В 17/00. Спосіб відбору крові в експерименті у щурів / А. А. Гудима, А. В. Доброродній, М. І. Марущак, В. Б. Доброродній, В. В. Коптюх – № u 2011 03185 ; заявл. 18.03.2011 ; опубл. 25.10.2011, Бюл. № 20. (Здобувач самостійно опанувала методику забору артеріальної крові, оформила патент).

25. Марущак М. Клітинний склад крові та бронхоальвеолярного змиву при гострому ураженні легень в експерименті / М. Марущак, М. Виваль, Г. Габор // XV Міжнародний конгрес студентів і молодих вчених, 27–29 квітня 2011 р. : матеріали конгр. – Тернопіль : "Укрмедкнига", 2011. – С. 272. (Здобувач самостійно спланувала і провела експеримент, статистично обробила результати).

26. Марущак М. Взаємозв'язок між кількістю нейтрофільних гранулоцитів та індексом оксигенації на різних стадіях експериментального гострого ураження легень / М. Марущак, М. Виваль, Г. Габор // II міжнародна науково-практична конференція молодих вчених, 17–18 травня, 2011 р. : матеріали конгр. – Вінниця, 2011. – С. 104. (Здобувач сформулювала мету дослідження, провела дослідження, статистичну обробку).

27. Марущак М. І. Основні показники газового складу артеріальної крові у щурів з гострим ураженням легень / М. І. Марущак, Г. Г. Габор, М. Б. Виваль // Актуальні питання анестезіології та інтенсивної терапії: Галицькі анестезіологічні читання, науково-практична конференція з міжнародною участю, 19–20 травня 2011 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2011. – С. 37–38. (Здобувач сформулювала мету дослідження, провела аналіз результатів, підготувала тези до друку).

28. Гудима А. А. Дослідження процесів вільнорадикального окиснення при гострому ураженні легень / А. А. Гудима, М. І. Марущак, І. Я. Криницька // Бюлетень Х читань ім. В.В. Підвисоцького, 26–27 травня 2011 р. : матеріали конф. – Одеса, 2011. – С. 42–43. (Здобувач самостійно провела експеримент, оформила тези).

29. Марущак М. І. Циркуючі імунні комплекси при експериментальному гострому ураженні легень / М. І. Марущак, Л. А. Грищук, М. Б. Виваль // Імунопатологія при респіраторних захворюваннях : II науковий симпозіум, 06–07 жовтня 2011 р. : матеріали симпозіуму. – Тернопіль : "Укрмедкнига", 2011 – С. 26. (Здобувач самостійно провела експеримент, оформила тези).

30. Марущак М. І. Вміст імуноглобуліну А в сироватці крові тварин при гострому ураженні легень у динаміці / М. І. Марущак, Г. Г. Габор, М. І. Куліцька // Медична хімія. – 2011. – № 4 (49). – С. 216. (Здобувач сформулювала мету дослідження, провела дослідження, статистичну обробку).

31. Марущак М. І. Показники окисної модифікації білків при експериментальному HCl-індукованому гострому ураженні легень / М. І. Марущак, Г. Г. Габор, М. Б. Виваль // Медицина ХХІ століття : науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 150-річчю заснування Харківського медичного товариства, 30 листопада 2011 р. : матеріали конф. – Харків, 2011. – С. 68–69. (Здобувач провела дослідження, аналіз, статистичну обробку, підготувала тези до друку).

32. Марущак М. И. Динамика нитрит-аниона в сыворотке крови и гомогенате легких при экспериментальном остром поражении легких / М. И. Марущак // Актуальные проблемы диагностики, лечения и профилактики туберкулеза в свете стратегии «Stop TB»: научно-практическая конференция, посвященная 50-летию кафедры фтизиопульмонологии, 8 декабря 2011 г. : сб. статей. – Минск : «Белпринт», 2011. – С. 46.

33. Марущак М. И. Роль интерлейкина-8 в развитии экспериментального острого поражения легких / М. И. Марущак, Н. Б. Вываль // Актуальные вопросы медицинской науки : Всероссийская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых с международным участием, посвященная 70-летию профессора А.А. Чумакова, 18–20 апреля 2012 г. : сб. науч. Работ. – Ярославль : ООО «Издательско-полиграфический комплекс «Индиго», 2012. – С. 34. (Здобувачу належить ідея і планування дослідження, аналіз та обробка результатів).

34. Марущак М. І. Морфологічне дослідження легеневої тканини щурів при гострому ураженні легень в динаміці / М. І. Марущак, Г. Г. Габор, Д. М. Біловус // Актуальні питання теоретичної медицини. Актуальні питання клінічної медицини. Клінічні та патогенетичні аспекти мікроелементозів. Actual problems of fundamental and clinical medicine (in English) : науково-практичні конференції студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів, 10–12 квітня 2012 р. : матеріали конф. – Суми : СумДУ, 2012. – С. 49. (Здобувач самостійно провела експеримент, оформила тези).

35. Марущак М. І. Патогенетична роль антиоксидантної системи у перебігу гострого ураження легень / М. І. Марущак // Здобутки клінічної і експериментальної медицини : підсумкова науково-практична конференція, 17 квітня 2012 р. : матеріали конф. – Тернопіль : «Укрмедкнига», 2012. – С. 192.

36. Марущак М. И. Уровень апоптоза при экспериментальном остром поражении легких / М. И. Марущак, Г. Г. Габор // Актуальные проблемы экспериментальной, профилактической и клинической медицины : XIII Тихоокеанская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых с международным участием, 19–20 апреля 2012 г. : тез. докл. – Владивосток :

Медицина ДВ, 2012. – С. 102. (Здобувач самостійно спланувала і провела експеримент, здійснила визначення апоптозу методом проточної цитометрії, статистично обробила результати).

37. Марущак М. І. Роль ендотоксикозу у розвитку гострого ураження легень / М. І. Марущак // XVI Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених, 23-25 квітня 2012 р. : матеріали конгр. – Тернопіль : «Укрмедкнига», 2012. – С. 193.

38. Марущак М. І. Роль окисного стресу в патогенезі експериментального гострого ураження легень / М. І. Марущак, М. Б. Виваль // Внесок молодих спеціалістів в розвиток медичної науки і практики : Всеукраїнська науково-практична конференція присвячена дню науки, 17 травня 2012 р. : матеріали конф. – Харків, 2012. – С. 102–103. (Здобувачу належить планування і проведення експерименту, аналіз та обробка результатів).

39. Marushchak M. The influence of bronchoalveolar and circulating tumor necrosis factor-alpha on apoptosis in different models of lung injury / M. Marushchak, I. Krynytska // MedEspera : 4th International Medical Congress for Students and Young Doctors, May 17–19, 2012 : Abstract Book. – Chisinau : S. n., 2012. – P. 15–16. (Здобувач самостійно спланувала і провела експеримент, здійснила дослідження методом проточної цитометрії, статистично обробила результати при моделі гострого ураження легень).

40. Марущак М. И. Корреляционная связь величины легочного отека с показателями газового состава крови при экспериментальном остром повреждении легких / М. И. Марущак // Забайкальский медицинский журнал / Болезни органов дыхания: от ребенка к взрослому : научно-практическая конференция с международным участием, 24-25 мая 2012 г. : материалы конф. – Чита, 2012. – С. 38.

АНОТАЦІЯ

Марущак М.І. Патогенез гострого ураження легень: порушення оксидативних, імунітокінових, некротичних та апоптоз-опосередкованих процесів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», Тернопіль, 2012.

Дисертація присвячена вивченню особливостей патогенезу гострого ураження легень у самців–щурів внаслідок інтратрахеального введення гідрохлоридної кислоти на підставі дослідження метаболічних і деструктивних процесів на місцевому і системному рівнях.

Проведені дослідження показали, що головним проявом гострого ураження легень є розвиток гіпоксії й респіраторного ацидозу, що зумовлено порушенням дифузії газів в альвеолах, та супроводжується відхиленнями на рівні регуляції центральної і периферичної гемодинаміки. Респіраторний ацидоз, що розвинувся, сприяє протеолітичній деструкції тканини легень, у

результаті чого підвищується інтенсивність пероксидного окиснення білків та ліпідів, що є основними чинниками ендотоксемії. Встановлена пряма залежність між активацією процесів вільнорадикального окиснення, пригніченням антиоксидантного захисту та ініціацією запального процесу і деструкцією легеневої тканини при гострому ураженні легень.

Гостре ураження легень змінює відповідь клітинної і гуморальної ланок неспецифічної резистентності та імунної системи, що проявляється достовірним збільшенням через 2 години кількості В-лімфоцитів, сироваткових імуноглобулінів класів А і G, циркулюючих імунних комплексів та після 12 годин – зростанням у бронхоальвеолярному змиві лімфоцитів із фенотипом CD4+ і CD8+. Гіперпродукція прозапальних ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 у бронхоальвеолярному змиві та сироватці крові сприяє активації й дегрануляції нейтрофілів та запуску метаболічних каскадних реакцій, при цьому реалізація клітинної загибелі проявляється наростанням деструктивних змін нейтрофільних гранулоцитів за типом пізнього апоптозу або некрозу в перші 6 годин ураження, з наступним сповільненням цих процесів та активацією раннього апоптозу, який досягає свого максимуму через 24 години гострого ураження легень, що підтверджується морфологічно. Уперше визначено, що в ініціації першого етапу апоптозу на тлі гострого ураження легень відіграють система фактора некрозу пухлин альфа та продукти вільнорадикального окиснення.

Ключові слова: патогенез, гостре ураження легень, апоптоз, некроз.

АННОТАЦІЯ

Марущак М.И. Патогенез острого поражения легких: нарушение оксидационных, иммуно-цитокиновых, некротических и апоптоз-опосредованных процессов. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины», Тернополь, 2012.

Диссертация посвящена изучению особенностей патогенеза острого поражения легких у среднеустойчивых к гипоксии самцов крыс на основании исследования метаболических и деструктивных процессов на местном и системном уровнях.

Для воспроизведения острого поражения легких животным вводили в трахею гидрохлоридную кислоту (HCl) при pH 1,2 из расчета 1,0 мл на 1кг массы тела во время вдоха. Крыс выводили из эксперимента через 2, 6, 12 и 24 часа после моделирования синдрома. Исследовали показатели кислородного обмена, pH крови, процессов перекисного окисления липидов, окислительной модификации белков, антиоксидантной защиты, системы оксида азота, клеточного и гуморального звеньев иммунной защиты, эндогенной интоксикации, цитокинового

профиля, свободнорадикального окисления, пути реализации клеточной гибели в крови, бронхоальвеолярном смыве и гомогенате легких, морфологическую и электронно-микроскопическую картину легких в условиях экспериментального острого поражения легких гидрохлоридной кислотой.

Проведенные исследования показали, что главным проявлением острого поражения легких является развитие гипоксии и респираторного ацидоза, что обусловлено нарушением диффузии газов в альвеолах, и сопровождается отклонениями на уровне регуляции центральной и периферической гемодинамики. Развившийся респираторный ацидоз способствует протеолитической деструкции ткани легких, в результате чего повышается интенсивность перекисного окисления белков и липидов, являющихся основными факторами эндотоксемии. Установлена прямая зависимость между активацией процессов свободнорадикального окисления, угнетением антиоксидантной защиты, инициацией воспалительного процесса и деструкцией легочной ткани при остром поражении легких.

Острое поражение легких меняет ответ клеточного и гуморального звеньев неспецифической резистентности и иммунной системы, что проявляется достоверным увеличением через 2 часа количество В-лимфоцитов, сывороточных иммуноглобулинов классов А и G, ЦИК и после 12 часов – ростом в бронхоальвеолярном смыве лимфоцитов с фенотипом CD4 + и CD8 +. Гиперпродукция провоспалительных ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8 в бронхоальвеолярном смыве и сыворотке крови способствует активации и дегрануляции нейтрофилов и запуску метаболических каскадных реакций, при этом реализация клеточной гибели проявляется нарастанием деструктивных изменений нейтрофилов по типу позднего апоптоза или некроза в первые 6 часов поражения, с последующим замедлением этих процессов и активацией раннего апоптоза, который достигает своего максимума через 24 часа острого поражения легких, что подтверждается морфологически. Впервые определено, что сигнальными путями реализации апоптоза на фоне острого поражения легких являются рецептор-опосредованный, включающий увеличение концентрации ФНО- α и процента нейтрофилов, несущих мембраносвязывающий рецептор ФНО типа 1, и митохондриальный вследствие накопления активных форм кислорода и процента нейтрофилов со сниженным трансмембранным потенциалом митохондрий. Реализатором апоптоза при исследованном синдроме является эффекторная каспаза-3, активность которой к концу первых суток превышает в 3 раза показатели контроля.

Острое поражение легких морфологически проявляется полнокровием межальвеолярных перегородок, отеком, инфильтрацией лимфогистиоцитами, эритроцитами с очаговыми скоплениями сегментоядерных лейкоцитов, выраженными дистрофическими изменениями поверхностного эпителия мелких бронхов, скоплением секрета или слущенного эпителия в просвете некоторых из них, расширением альвеол и эмфизематозно измененной легочной тканью,

что ведет к прогрессированию гипоксии. Изменения морфометрических параметров ткани легких в условиях их острого поражения подтверждают и дополняют характер морфофункциональной перестройки легочной паренхимы, элементов бронхиального дерева и кровеносного русла в условиях данной патологии в зависимости от длительности протекания патологического процесса.

Ключевые слова: патогенез, острое поражение легких, апоптоз, некроз

ANNOTATION

Marushchak M.I. Pathogenesis of the acute lung injury: violation of the oxidation, immune-cytokine, necrotic, and apoptosis-mediate processes. – Manuscript.

Dissertation for obtaining a scientific degree of Doctor of Medical Sciences. Speciality 14.03.04. – Pathological Physiology. The State Higher Educational Establishment «I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University of Ukraine's MHP», Ternopil, 2012.

The dissertation is dedicated to the examination of the pathogenesis peculiarity of the acute lung injury in male rats in consequence of the intratracheal administration of the hydrochloric acid based on the investigation of metabolic violation and destructive processes on the local and systemic levels.

The conducted investigations showed that the main onset of the acute lung injury is the development of the hypoxia and the respiratory acidosis which is caused by the violation of the gases diffusion in the alveolus, and is led by the deviation on the regulatory level in the central and the peripheral circulatory dynamics. The respiratory acidosis, that was developed, conduce the protheolytic destruction of the lung tissue, in a result of what the peroxidation intensivity of the proteins and lipids that are the main endotoxemy factors. The defined direct dependence between the processes activation of the free radical oxidation, the depression of the antioxidant protection and the initiation of the inflammatory process and the destruction of the lung tissue during the acute lung injury.

The acute lung injury changes the response of the cell and humorous components of the nonspecific resistance and immune system, which is evident 2 hours by the accurate enhancement after of the B-lymphocytes, serum immunoglobulin of the classes A and G, circulating immune complexes and after 12 hours by the enhancement of the total amount of the lymphocytes in the bronchoalveolar lavage with the phenotype CD4+ and CD8+. The hyperproduction of the proinflammatory IL-1 β , IL-6 and IL-8 in the bronchoalveolar lavage and the blood serum conduces the activation and the degranulation of the neutrophiles and the start of the metabolic cascade reactions, upon that the realization of the cell death is evident by the increase of the neutrophilic granulocytes destructive changes according to the late apoptosis or necrosis type during the first 6 hours of the injury with the following slowdown of these processes and the activation of the early apoptosis, that reaches its maximum after 24 hours of the acute lung injury, which confirms morphologically. Firstly it was determined the in the initiation of the

apoptosis first stage in the setting of the acute lung injury play the system of the tumor necrotic factor alpha and products of the free radical oxidation reactions.

Key words: pathogenesis, acute lung injury, apoptosis, necrosis

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АОЗ	– антиоксидний захист;
АФК	– активні форми кисню;
БАЗ	– бронхоальвеолярний змив;
ВТСБ	– відносна товщина стінки бронха;
ВПКС	– відносна площа кровоносних судин;
ВТСС	– відносна товщина судинної стінки;
ГУЛ	– гостре ураження легень;
ДК	– дієнові кон'югати;
ЕП	– еритроцитарний індекс інтоксикації;
ІЛ	– інтерлейкіни;
ІФА	– імуноферментний аналіз;
ЗАОА	– загальна антиоксидантна активність;
КЛР	– кислотно-лужна рівновага;
КТ	– каталаза;
МСМ ₂₅₄	– молекули середньої маси, визначені при довжині хвилі 254 нм;
МСМ ₂₈₀	– молекули середньої маси, визначені при довжині хвилі 280 нм;
НГ	– нейтрофільні гранулоцити
ОЧПП	– об'ємна частка пневматизованого простору легеневої тканини;
ОМБ	– окиснювальна модифікація білків;
ПОЛ	– пероксидне окиснення ліпідів;
СОД	– супероксиддисмутаза;
ТБК	– тіобарбітурова кислота;
ТК	– трієнові кон'югати;
ЦП	– церулоплазмін;
ШМП	– ширина міжальвеолярної перегородки;
SH-групи	– сульфгідрильні групи;
ЦІК	– циркулюючі імунні комплекси;
ФНП-α	– фактор некрозу пухлин α;
ФНП-R1	– кількість нейтрофілів, що несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП-α типу 1;
AaDO ₂	– альвеолярно-артеріальний градієнт за киснем;

FITC	– флуоресцеїн ізотіоціонат;
F_iO_2	– вміст кисню у повітрі;
HCl	– хлоридна кислота;
NO_2^-	– нітрит-аніон;
Ig	– імуноглобулін;
pO_2	– напруження кисню;
pCO_2	– напруження вуглекислого газу;
PI	– пропідію йодид;
$\Delta\psi$	– трансмембранний потенціал мітохондрій.