

Міністерство охорони здоров'я України
Державний вищий навчальний заклад
“Тернопільський державний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”

На правах рукопису

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

Дисертація на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Науковий консультант:
Бондаренко Юрій Іванович
доктор медичних наук,
професор

Тернопіль – 2012

ЗМІСТ

| | |
|---|----|
| Зміст | 2 |
| Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів | 6 |
| Вступ | 8 |
| Розділ 1 Синдром гострого ураження легень. Перебіг патогенетичних процесів в організмі за умови гострого ураження легень (огляд літератури) | 17 |
| 1.1 Особливості етіології і патогенезу гострого ураження легень. | 17 |
| 1.1.1 Визначення синдрому гострого ураження легень та респіраторного дистрес-синдрому. Епідеміологічні дані | 17 |
| 1.1.2 Патогенез запальної відповіді при гострому ураженні легень | 21 |
| 1.1.3 Значення цитокіногенезу та нітросидергічних механізмів у розвитку гострого ураження легень | 29 |
| 1.1.4 Роль пероксидного окиснення ліпідів і білків та системи антиоксидного захисту в регуляції легеневих процесів | 37 |
| 1.2 Апоптоз і його роль у патогенезі легеневих захворювань. Сучасний стан проблеми | 47 |
| 1.2.1 Загальна характеристика шляхів реалізації апоптозу | 47 |
| 1.2.2 Сигнальні шляхи запуску і розвитку апоптозу | 54 |
| Розділ 2 Матеріал і методи дослідження | 59 |
| 2.1 Загальна характеристика моделей гострого ураження легень | 59 |
| 2.2 Характеристика експериментального дослідження | 61 |
| 2.3 Визначення показників газового складу крові та рН | 66 |
| 2.4 Визначення показників функціонального стану організму | 66 |
| 2.4.1 Оцінка рівня набряку легень | 66 |
| 2.4.2 Дослідження імунореактивності організму | 67 |
| 2.4.3 Показники ендогенної інтоксикації | 68 |
| 2.4.4 Показники вільнорадикального окиснення та антиоксидного захисту | 69 |

| | | |
|---|--|-----|
| 2.5 | Методи дослідження ініціації та реалізації апоптозу гранулоцитів | 77 |
| 2.6 | Морфологічне дослідження тканини легень | 83 |
| 2.7 | Статистичні методи дослідження | 84 |
| Розділ 3 | | |
| Порушення газового складу крові, вільнорадикального окиснення, нітросидергічних процесів та системи антиоксидного захисту в динаміці експериментального гострого ураження легень хлоридною кислотою | | 85 |
| 3.1 | Зміни газового складу крові та рН за умови гострого ураження легень | 85 |
| 3.2 | Особливості центральної гемодинаміки в умовах експериментального гострого ураження легень | 90 |
| 3.3 | Динаміка показників пероксидного окиснення ліпідів на тлі гострого ураження легень | 93 |
| 3.4 | Особливості окиснювальної модифікації білкових молекул при експериментальному гострому ураженні легень | 97 |
| 3.5 | Роль монооксиду нітрогену в процесах вільнорадикального окиснення при гострому ураженні легень в експерименті | 100 |
| 3.6 | Стан системи антиоксидного захисту у щурів за умови гострого ураження легень | 103 |
| 3.7 | Кореляційний аналіз показників вільнорадикального окиснення, нітросидергічних механізмів та системи антиоксидантного захисту в патогенезі гострого ураження легень | 113 |
| Розділ 4 | | |
| Особливості показників ендогенної інтоксикації, клітинної і гуморальної ланок імунної системи, цитокінового статусу у щурів з індукованим хлоридною кислотою гострим ураженням легень | | 121 |
| 4.1 | Синдром ендогенної інтоксикації за умови аспіраційного ураження легень | 121 |
| 4.2 | Особливості порушень клітинної і гуморальної ланок імунної системи при експериментальному гострому ураженні легень | 125 |

| | |
|--|-----|
| 4.3 Закономірності змін цитокинового статусу у сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві щурів за умови гострого ураження легень | 129 |
| 4.4 Встановлення кореляційних зв'язків між показниками ендогенної інтоксикації, гуморального імунітету, цитокинового статусу та системи про-антиоксидного захисту у щурів з гострим ураженням легень | 138 |
| Розділ 5 Роль некрозо-апоптичних механізмів у реакції нейтрофільних гранулоцитів крові і бронхоальвеолярного змиву в розвитку аспіраційного гострого ураження легень | 142 |
| 5.1 Патогенетична роль нейтрофільних гранулоцитів при експериментальному гострому ураженні легень | 142 |
| 5.2 Рівень активних форм кисню в нейтрофільних гранулоцитах щурів на тлі гострого ураження легень | 146 |
| 5.3 Зміна трансмембранного потенціалу мітохондрій гранулоцитів крові та бронхоальвеолярного змиву при гострому ураженні легень в експерименті | 152 |
| 5.4 Система фактору некрозу пухлин- α у крові й бронхоальвеолярному змиві при гострому ураженні легень | 157 |
| 5.5 Роль некрозо–апоптичних механізмів при гострому легeneвому ураженні | 161 |
| 5.6 Зміна активності каспази-3 у крові та гомогенаті легень при експериментальному гострому ураженні легень | 169 |
| 5.7 Молекулярні механізми фактор некрозу пухлин- α – опосередкованого апоптозу нейтрофілів на тлі експериментального гострого ураження легень | 171 |
| 5.8 Вплив процесів вільнорадикального окиснення на апоптичні зміни нейтрофільних гранулоцитів у щурів за умови гострого ураження легень | 175 |

| | |
|--|-----|
| 5.9 Роль мітохондрій в апоптозі при експериментальному гострому ураженні легень | 180 |
| Розділ 6 Структурно-функціональна характеристика легень за умов дії некрозо-апоптичних факторів їх гострого ураження | 187 |
| 6.1 Патоморфологічна характеристика легень на тлі експериментального гострого ураження гідрохлоридною кислотою | 187 |
| 6.2 Морфометричні аспекти структурно-функціональних змін легень за умов дії факторів їх гострого ураження | 206 |
| 6.3 Гістологічні зміни легеневої тканини при експериментальному гострому ураженні легень у динаміці | 212 |
| Розділ 7 Аналіз та узагальнення результатів дослідження | 230 |
| Висновки | 279 |
| Список використаних джерел | 283 |
| Додатки | 344 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

| | |
|--------------------|--|
| 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/ALI | – гостре ураження легень, гостре ушкодження легень, HCl-індуковане гостре ураження легень / acute lung injury; |
| ГРДС/ARDS | – гострий респіраторний дистрес-синдром / acute respiratory distress syndrome; |
| 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; |
| ЦК | – 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; |
| FiO ₂ | – вміст кисню у повітрі; |
| HCl | – хлоридна кислота; |
| NO | – оксид азоту; монооксиду нітроген |
| NO ₂ ⁻ | – нітрит-аніон; |
| Ig | – імуноглобулін; |
| pO ₂ | – напруження кисню; |
| pCO ₂ | – напруження вуглекислого газу; |
| PI | – пропідію йодид; |
| $\Delta\psi$ | – трансмембранний потенціал мітохондрій |

ВСТУП

Актуальність теми. Гостре ураження легень є серйозною клінічною проблемою і включає тяжкі пошкодження альвеоло-капілярної мембрани та набряк легень [1, 2]. За даними різних авторів частота гострого ураження легень складає близько 150-200 тис. випадків на рік [3, 4], причому на захворюваність впливає ряд чинників – вік, стать, расова й етнічна приналежність [5, 6, 7]. Найвища захворюваність на гостре ураження легень спостерігається при сепсисі: у 25 % усіх випадків тяжкого сепсису розвивається гострий респіраторний дистрес-синдром [8] і у 7 % пацієнтів відділень інтенсивної терапії розвивається гостре ураження легень чи гострий респіраторний дистрес-синдром [8, 9], які у 50 % закінчуються смертю пацієнта [8, 10]. Розвиток гострого ураження легень спостерігається також серед дітей різного віку [3, 4, 11, 12]. На підставі прогнозу захворюваність подвоїться протягом наступних 25 років [13]. У зв'язку із старінням населення і зростанням випадків сепсису, ця цифра також буде зростати. Так, згідно даних Meng-Taο Zhou і співав. [14], при гострому панкреатиті смертність від гострого ураження легень складає 30-40 %, а в старшому віці досягає 60 %, що вдвічі перевищує летальність при раку молочної залози або простати та в декілька разів – при синдромі набутого імунодефіциту [15, 16].

Етіологічна багатофакторність гострого ураження легень, з одного боку, ускладнює його дослідження, з іншого – відкриває простір для пошуку нових патогенетичних ланок даної недуги [17-20].

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 [2, 21].

Усе більше уваги останнім часом приділяється вивченню механізмів розвитку гострого ураження легень [22, 23]. Одним із сучасних маркерів розвитку захворювань, у тому числі й легеневих, є апоптоз клітин [24]. Дисбаланс у системі його регуляції лежить в основі розвитку ряду захворювань, тому дослідження апоптозу має перспективне значення у вивченні патогенезу гострого ураження легень. Проведені попередні дослідження рівня апоптозу при гострому ураженні легень містять суперечливі дані щодо його ролі в патогенезі даного синдрому. Одні дослідники стверджують про гальмування апоптозу нейтрофілів у бронхоальвеолярному змиві при гострому ураженні легень [25], інші – про активацію програмованої смерті клітин при деяких експериментальних моделях досліджуваної патології [26]. Для підтвердження легеневих і позалегенеких 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 [24-26].

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, цитокінових, 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, цитокінового 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, антиоксидантного 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 є основними чинниками ендотоксемії. Встановлена пряма залежність між активацією процесів вільнорадикального окиснення, пригніченням антиоксидантного захисту, розвитком ендотеліальної дисфункції та ініціацією запального процесу і деструкції легеневої тканини.

Вперше показано, що при гострому гідрохлоридному ураженні легень розвивається взаємозв'язана гіперпродукція прозапальних ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 у бронхоальвеолярному змиві та сироватці крові, що сприяє активації й дегрануляції нейтрофілів та запуску метаболічних каскадних реакцій. При цьому дисбаланс ІЛ-8 позитивно корелює з кількістю гранулоцитів. ІЛ-10 у перші 12 год сповільнює надмірну продукцію прозапальних цитокінів, проте даний механізм виснажується на 24 год.

Уперше виявлено, що впродовж першої доби у щурів на тлі гострого ураження легень відбуваються відмінні явища раннього та пізнього апоптозу/некрозу, що проявляється наростанням деструктивних змін нейтрофільних гранулоцитів по типу пізнього апоптозу/некрозу в перші 6 год ураження, з наступним сповільненням цих процесів та активацією раннього апоптозу, який досягає максимальних значень через 24 год. Дані порушення пов'язані з прямою пошкоджуючою дією гідрохлоридної кислоти на альвеолярний епітелій та розвитком некротичних процесів у легенях у перші години ураження.

Уперше констатовано, що в ініціації першого етапу апоптозу на тлі ГУЛ відіграють система ФНП- α та реакції вільнорадикального окиснення. Встановлено виражений проапоптичний ефект ФНП- α та кількості

нейтрофілів, які мають на своїй поверхні мембранозв'язуючі рецептори ФНП- α типу 1, що підвищує імовірність їх залучення в апоптоз. Зниження трансмембранного потенціалу мітохондрій посилює перехід електронів на кисень, підвищує кількість внутрішньоклітинних активних форм кисню і веде до незворотніх змін у клітині. Вперше виявлено прогресивне зростання каспази-3 в гомогенаті легень при незмінній активності цистеїнової протеїнази у плазмі крові, що доводить наявність різного рівня проапоптогенних сигналів у крові і легенях та різною кількістю клітин, що несуть на собі апоптогенні рецептори.

Уперше з'ясовано на основі морфологічних порушень у респіраторному відділі легень при гострому їх ураженні, що реалізація комплексу дистрофічних і деструктивних реакцій відбувається у структурах аерогематичного бар'єра, при цьому основними типами селективної загибелі клітин легень є некроз та апоптоз.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати дозволяють сформуванню цілісної схеми 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 дослідження. 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, отримано патент на корисну модель.

РОЗДІЛ 1

СИНДРОМ ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ ЛЕГЕНЬ. ПЕРЕБІГ ПАТОГЕНЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ В ОРГАНІЗМІ ЗА УМОВИ ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ ЛЕГЕНЬ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Особливості етіології і патогенезу гострого ураження легень

1.1.1 Визначення синдрому гострого ураження легень та гострого респіраторного дистрес-синдрому. Епідеміологічні дані. Гостре ураження легень (ГУЛ) використовується для загального визначення дихальної недостатності, зумовленої гіпоксемією, тяжка форма якої називається гострим респіраторним дистрес-синдромом.

Гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) – це дуже тяжка форма гострої дихальної недостатності, яка розвивається стадійно у відповідь на ушкодження легень екзогенними або ендогенними факторами і характеризується прогресуючим некардіогенним набряком легень внаслідок ураження альвеоло-капілярної мембрани, задишкою і гіпоксемією, стійкою до оксигенотерапії. Він є проявом синдромів системної запальної відповіді та поліорганної недостатності. ГУЛ – це локалізована відповідь внаслідок дифузного запального процесу в легенях на системний запальний процес із гострим розвитком у пацієнтів гіпоксії, тахіпноє та зниженням еластичності легень [26].

ГУЛ або ГРДС є серйозною клінічною проблемою [2]. Він у всіх випадках включає тяжкі пошкодження альвеоло-капілярної мембрани, набряк легень і є основною причиною смертності хворих.

Уперше клінічні прояви ГУЛ були описані в 1967 році у 12 пацієнтів, сім з яких загинули [3]. Тоді був застосований термін респіраторний дистрес-синдром дорослих. У літературі зустрічалися різні синоніми цього

патологічного стану: шокова легень, некардіогенний набряк легень, післяперфузійна легень, синдром вологих легень, синдром гіалінових мембран, синдром ригідної легень, легень Дананга, синдром просякання легеневої капілярів та інші [4, 5, 26].

У 1994 році згідно ухвали Міжнародної узгоджувальної конференції лікарів Північної Америки та Європи було запропоновано нову назву захворювання – “гостре ураження легень і гострий респіраторний дистрес-синдром”. На ній було визначено, що це гострий стан, який характеризується двобічною інфільтрацією легень і тяжкою гіпоксемією за відсутності ознак кардіогенного набряку легень [27]. Диференційний діагноз у хворих з ГУЛ і ГРДС, які мають двобічні інфільтрати в легенях і артеріальну гіпоксемію, можна поставити за співвідношенням вдихуваних фракцій кисню (P_{aO_2}/F_{iO_2}): якщо показник менший 300 – у хворого ГУЛ, менший 200 – ГРДС. Як результат порушення обміну газів крові виникає артеріальна гіпоксемія, викликана наростанням набряку в дистальних повітряних просторах легень. Крім порушення кисневого обміну відмічаються зміни екскреції вуглекислого газу, що призводить до підвищення частоти дихання, хвилинного об’єму дихання [27].

Згідно з наказом Міністерства охорони здоров’я України № 430 від 03.07.2006 “Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю “Анестезіологія та інтенсивна терапія”, ГУЛ – це синдром гострої легеневої недостатності, який виникає як відповідь на локальну чи системну гіпоксію тканин, їх ішемію та реперфузію, з багатофакторною етіологією. Запальний процес у легенях пов’язаний з багатьма факторами: активацією поліморфноядерних нейтрофілів, ендотеліоцитів, продукцією вільних кисневих радикалів. У його патогенезі основну роль відіграє некоригований набряк легень внаслідок пошкодження альвеоло-капілярної мембрани [28].

Розвиток ГУЛ може бути у хворих з різною патологією [29]. Цей синдром описаний як у хворих з легеневою, так і позалегеневою патологією.

У першому випадку ГУЛ і ГРДС може зустрічатися при таких захворюваннях і патологічних станах, як пневмонія [30, 31], інгаляційне або повітряне ураження легень (вдихання газів подразнюючої, токсичної дії, диму) [32], дифузна альвеолярна кровотеча [33], аспірація шлункового вмісту [26] і меконію [11], пряме ушкодження, забій, пересадка легень [34], міліарний туберкульоз [35], неврогенний набряк легень у результаті інсульту, судом, травми голови [36]. При позалегеновій патології він часто буває у хворих з тяжкими травмами м'яких тканин і скелету [37], сепсисом [38], жировою емболією [39], панкреатитом [40], шоком [41], лептоспірозом [42], передозуванням ліків (героїну, метанолу, аспірину, пропоксифену, кокаїну, опіоїдів, фенотіазинів, трициклічних антидепресантів) [43], масивними і множинними гемотрансфузіями [44], патологією нирок [45], грипом [46], лейкемією [47], утопленням [48], гірською хворобою [49], баротравмою [50], променевим ураженням [51], черепно-мозковою травмою [52], штучним кровообігом [53], гемодіалізом [54], опіками [55], ДВЗ-синдромом [56], пересадкою кісткового мозку [57], кардіопульмональним шунтуванням [58], застосуванням рентгеноконтрастних препаратів [59]. За останні декілька років до етіологічних чинників гострого респіраторного дистрес-синдрому приєднався вірус грипу штаму А/Н1N1 [60, 61]. У 2009 році ВООЗ було оголошено пандемію грипу А/Н1N1. В Україні з початку епідемії до кінця листопада на грип і гострі респіраторні вірусні інфекції захворіло понад 1,8 млн осіб, із них близько 400 - померло. Було підтверджено біля 100 випадків захворювання на грип А/Н1N1, що у 16,5 % мали летальні наслідки [62]. Проведені патанатомічні дослідження показали, що при аутопсії померлих від даного грипу виявлені ознаки ГРДС на фоні вірусної пневмонії [63]. При поєднанні дії декількох факторів ризику імовірність розвитку ГУЛ і ГРДС істотно зростає [29, 64].

Епідеміологія синдрому мало вивчена. Згідно досліджень Matthay M. A. і Zemans R. L. [5] у 2005 році захворюваність на ГУЛ і ГРДС серед дорослих склала близько 200000 пацієнтів на рік. Смертність при

цьому сягала біля 40 % [6, 7]. Випадки ГУЛ і ГРДС в США відповідно становили 79 і 59 на 100000 осіб на рік [7, 65, 66]. На підставі експонентного росту населення, захворюваність, швидше за все, подвоїться протягом наступних 25 років [13]. У зв'язку із старінням населення і зростанням випадків сепсису, ця цифра також буде зростати. Так, згідно даних Meng-Taο Zhou і співав. [14], при гострому панкреатиті смертність від ГУЛ і ГРДС складає 30-40 %, а в старшому віці досягає 60 % [15, 16].

Найвища захворюваність на ГУЛ спостерігається при сепсисі: у 25 % усіх випадків тяжкого сепсису розвивається ГРДС [8] і у 7 % пацієнтів відділень інтенсивної терапії розвивається ГУЛ чи ГРДС [8, 9], що у 50 % закінчується смертю пацієнта [9, 10].

При пневмонії, викликаній внутрішньолікарняною інфекцією смертність складає 12-33 %, а при ускладненні її ГРДС вона зростає до 80 % [31]. Летальність хворих з ГРДС перевищує 58 %, а тому він є найчастішою причиною смерті хворих у відділеннях інтенсивної терапії [26]. Досліджено, що розвиток ГУЛ спостерігається і серед дітей різного віку [3, 4, 11, 12].

Окремі автори вважають, що афроамериканці та іспаномовні пацієнти мають вищу смертність при розвитку ГУЛ, ніж пацієнти кавказького регіону [67], проте роль генетичних факторів і факторів навколишнього середовища расових та етнічних відмінностей смертності ще не дуже добре зрозумілі. Інші автори [68] вказують на відсутність расових відмінностей у виникненні і смертності від ГУЛ пацієнтів із шоком при пенетруючій травмі і масивних гемотрансфузіях. У даному дослідженні було обстежено 1831 особа кавказького регіону, 871 афро-американець, 886 іспанців, 809 жителів Азії і тихоокеанських островів.

У більшості хворих розвиток синдрому ГУЛ і ГРДС пов'язують із наявністю легеневих і позалегеневиx інфекцій. Найчастішою причиною є пневмонія [2], тяжкий сепсис, аспірація шлункового вмісту, кровотеча і шок внаслідок великої травми [3-5].

У пацієнтів з гострим ураженням легень розвиваються пошкодження інших органів, зокрема серцево-судинної системи, нирок, печінки, крові. Часто це призводить до виникнення тяжкого сепсису, шоку. Виникнення гострої ниркової недостатності при ГУЛ збільшує смертність з 28 % до 58 % [69].

З поліпшенням лікування смертність хворих з ГУЛ у США за останні роки знизилася до 35-40 % [70]. Приблизно 10 % всіх пацієнтів відділень інтенсивної терапії страждають від гострої дихальної недостатності, 20 % серед яких підходять під критерії ГУЛ або гострого респіраторного дистрес-синдрому [22].

1.1.2 Патогенез запальної відповіді при гострому ураженні легень. Характеристика отриманих патологічних змін у легенях у хворих з ГУЛ/ГРДС найкраще описана в класичному дослідженні в 1977 році. Воно включає ультраструктурні зміни в гострій, підгострій та хронічній фазах розвитку синдрому [65, 71]. У гострій фазі (перші 1-6 днів), розвивається інтерстиціальний та альвеолярний набряк з накопиченням нейтрофілів, макрофагів і еритроцитів в альвеолах. Також розвивається ендотеліальне й епітеліальне ураження, яке часто призводить до руйнування альвеолярного епітелію, спостерігається утворення гіалінових компонентів мембран в альвеолах. У підгострій фазі (наступні 7-14 днів) набряк, як правило, розсмоктується, відновлюються альвеолярні структури шляхом проліферації альвеолярних епітеліальних клітин II типу. Також може бути інфільтрація фібробластів і відкладення колагену. У хронічній стадії (після 14 днів) спостерігаються нейтрофільні інфільтрати (якщо не було приєднання внутрішньолікарняної пневмонії) із збільшенням мононуклеарних клітин і альвеолярних макрофагів в альвеолах, і часто наростанням фіброзу з постійним відновленням альвеолярного епітелію. У багатьох пацієнтів зміни розвиваються без фіброзу з поступовим розрішенням набряку і гострого запалення. У дослідженні інших авторів [22] вказано, що в основі ГУЛ/ГРДС лежить дифузне запалення легень. У цьому

процесі виділяють 3 фази: ексудативну, проліферативну і фібринолітичну. У ексудативну фазу у відповідь на запалення виділяються цитокіни та інші прозапальні речовини. Вони активують альвеолярні макрофаги та циркулюючі нейтрофіли. Активовані нейтрофіли прикріплюються до ендотелію легневих капілярів і вивільняють вміст своїх цитоплазматичних гранул (протеази і токсичні метаболіти кисню) [72]. Це призводить до пошкодження ендотелію капілярів і епітелію альвеол, порушуючи альвеолярно-капілярний бар'єр. У результаті ексудат проникає в легеневу паренхіму і альвеолярний повітряний простір. Порушується газообмін і виникає гіпоксія. Також можливе пошкодження альвеолоцитів II типу, які відповідають за вироблення сурфактанту. При цьому відбувається спадіння альвеол, зниження розтяжності легень і внутрішньолегеневе шунтування. Крім того, у результаті внутрішньосудинної обструкції тромбами, спазму легневих судин через гіпоксію і дію запальних медіаторів (тромбоксану, лейкотрієнів і ендотеліну) розвивається легенева гіпертензія [73]. У проліферативну фазу у більшості пацієнтів відбувається відновлення легень: виділяється ексудат, нейтрофільна інфільтрація змінюється лімфоцитарною. Проліферуючі альвеолоцити II типу диференціюються в альвеолоцити I типу. Але, незважаючи на такі поліпшення, у багатьох хворих зберігається задишка, тахіпное, гіпоксемія [22]. У деяких пацієнтів процес переходить у фібринолітичну фазу. Накопичений в легенях фібрин піддається ремоделюванню і може викликати фіброз [74].

Патофізіологічною основою ГУЛ вважається ураження мікросудин малого кола кровообігу ("криза мікроциркуляції"). Поширений стаз в артеріолах, венулах та капілярах призводить до підвищення проникності альвеоло-капілярного бар'єру [75, 76] та виходу плазми крові до альвеолярного простору. Вважають, що підвищення проникності капілярів з наступним інтерстиціальним набряком розвивається при критичних станах на базі пертурбацій, в основі яких лежить рівняння Старлінга, тобто внаслідок підвищеної капілярної проникності для великих молекул (синдром

капілярної втрати). Цей процес підтримується за участі медіаторів запалення або механічного тиску [77].

Більшість авторів вважає, що в основі ГУЛ лежить запальний процес. Це кардинальним чином відрізняє його від кардіогенного (гідростатичного) набряку легень. У запальній відповіді беруть участь гуморальні і клітинні елементи. Гуморальна ланка включає в себе підвищення продукції і активацію різних систем, зокрема комплементу, коагуляції, кінінів, цитокінів, активних продуктів кисню, нейропептидів, вазоактивних пептидів, простагландинів, оксиду азоту, тромбоцитарного чинника та ін. [78]. Клітинна ланка запального процесу при ГУЛ складається з процесів адгезії, хемотаксису та активації нейтрофілів, макрофагів і лімфоцитів [23].

Незалежно від етіології патологічного процесу, як показують результати дослідження морфологічних змін у легеневій тканині, ключову роль у розвитку запалення в легенях відіграють нейтрофіли, які акумулюються в легенях [79-82]. Підвищену акумуляцію нейтрофілів виявляють як у легеневій паренхімі, так і в бронхоальвеолярному лаважі [71, 83, 24]. При інфекції чи запаленні нейтрофіли виконують різні корисні функції (фагоцитоз, продукція активних форм кисню і оксиду азоту, дегрануляція ферментів лізису), що при нормальній регуляції сприяє очищенню від патогенного фактора. Активовані поліморфноядерні нейтрофіли можуть приводити до пошкодження тканини органу при дизрегуляторних змінах. Активація нейтрофілів тісно пов'язана з виробленням прозапальних медіаторів, таких як фактор некрозу пухлин, ІЛ-1 β і ІЛ-6, і хемокінів, таких як ІЛ-8 і моноцитарний хемотаксичний білок (MCP)-1 [24]. ГУЛ може розвинутиися і у хворих з нейтропенією, що свідчить про важливу роль у генезі даного синдрому інших клітин, наприклад альвеолярних макрофагів [84]. І нейтрофіли, і макрофаги продукують прозапальні цитокіни і вільні радикали. Персистуюче підвищення в плазмі крові цитокінів – фактора некрозу пухлин, інтерлейкінів (ІЛ-1, 6, 8), ядерного фактора-кВ чи Акт, які регулюють прозапальні гени – асоційоване з

низьким виживанням хворих з ГУЛ [24, 85]. Ступінь активності нейтрофілів у бронхолегеновому лаважі пов'язана з поганим прогнозом при септичному ГРДС. Еміграція активованих поліморфноядерних лейкоцитів і перехід їх через ендотелій регулюється за допомогою молекул адгезії [71]. Серед них L-селектин (CD62L), CD11b/CD18, CD31 або PECAM-1. Нейтрофіли не потребують молекул адгезії під час їх першого контакту з ендотелієм, але вони необхідні для довготривалої адгезії. Це підтверджується у хворих з прямим і непрямим ушкодженням легень. Активація поліморфноядерних лейкоцитів найбільша у хворих з ГУЛ. Для проходження через капіляри в легенях нейтрофілам потрібно деформуватися. Медіатори запалення (C5a, ІЛ-8, ендотоксин) викликають жорсткість нейтрофілів, збільшення їх у розмірах і подовжують проходження їх через капіляри легень, сприяючи ендотеліально-нейтрофільній взаємодії [71, 83, 86]. Основні місця ушкодження можуть бути спрямовані на ендотелій судин (при сепсисі) або альвеолярний епітелій (при аспірації шлункового вмісту). Пошкодження ендотелію призводить до підвищення проникності капілярів і приплив багатою білком рідини в альвеолярний простір. Пошкодження альвеолярних клітин також сприяє формуванню набряку легень [87]. Існує два типи альвеолярних епітеліальних клітин. 1 тип клітин, які складають 90 % від альвеолярного епітелію, які легко пошкоджуються. Пошкодження 1 типу клітин збільшує входження рідини в альвеоли і знижує кліренс рідини з альвеолярного простору. 2 тип альвеолярних епітеліальних клітин відносно стійкіший до пошкоджень. Тим не менш, клітини 2 типу мають декілька важливих функцій, зокрема вироблення поверхнево-активних речовин, транспорт іонів, проліферація і диференціювання в клітини 1 типу після пошкодження клітин. Пошкодження клітини 2 типу призводить до зниження утворення сурфактанту з подальшим розвитком альвеолярного колапсу. Втручання в нормальний процес відновлення легень може привести до розвитку фіброзу [88, 89].

Нейтрофільні еластази відіграють важливу роль у патогенезі ГУЛ/ГРДС [90, 91]. Їх активність значно збільшується в сироватці і легенях пацієнтів або тварин з ГУЛ. Внутрішньовенні інфузії інгібітора нейтрофільних еластаз може зменшити прояви даного синдрому. У щурів інгаляція інгібітора нейтрофільних еластаз «Sivelestat» зменшує набряк легень і інфільтрацію нейтрофілів у легенях, поліпшує оксигенацію і виживання тварин при викликанні у них пошкодження легень олеїною кислотою [90]. У мишей при ГУЛ інгібітор еластази нейтрофілів значно знижує відкладення колагену в легеневій паренхімі і поліпшує статичну розтяжність пошкоджених легень, зменшує накопичення нейтрофілів у БАЗ, активацію трансформуючого фактора росту (TGF- β 1), і експресію фосфо-SMAD2/3. Це свідчить про те, що інгібування нейтрофільної еластази захищає від розвитку фіброзу легень після гострої травми, має терапевтичний потенціал для фібропроліферативної фази розвитку ГУЛ чи ГРДС [91]. Поліморфноядерним гранулоцитам відводять головну пошкоджуючу роль у патогенезі гострого ураження легень. Однак є докази того, що поліморфноядерні гранулоцити можуть сприятливо впливати на деякі види ГУЛ. У мишей-самців лінії СЗН/HeN викликали тупу травму грудної клітки, яка супроводжувалася виснаженням поліморфноядерних лімфоцитів. Тваринам за 48 годин до травми внутрішньовенно вводили 25 мкг/г маси тіла антитіла Gr-1, що руйнують поліморфноядерні лімфоцити. Спостерігалось одночасне підвищення у БАЗ і легеневій тканині інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) в поліморфноядерно збіднених і контрольних тварин після травми, у той час як запальний білок-2 макрофагів і моноцитарний хемоаттрактантний білок-1 в БАЗ і легенях, ІЛ-10 в БАЗ, легеневий кератиноцитарний хемоаттрактант ще більше зростали при відсутності поліморфноядерних лейкоцитів. Плазменні ІЛ-6 і хемоаттрактант також при цьому збільшилися. Травма грудей викликала збільшення ІЛ-6, фактору некрозу пухлини α , макрофагального запального білка 2, хемоаттрактантного білка моноцитів-1 та ІЛ-10 з ізольованих клітин

Купфера, яка притупляється при відсутності поліморфноядерних лейкоцитів. Активовані нейтрофіли контролювали запалення, включаючи медіаторну відповідь клітин імунної системи, але одночасно викликали пошкодження легень [92]. Нейтрофіли вивільняють протеолітичні ферменти, активні форми кисню/азоту, цитокіни і хемокіни, які можуть пошкоджувати сусідні ендотеліальні клітини, а після діapedезу – альвеоли. Треба зауважити, що всі ці продукти чинять сприятливий вплив, коли дія спрямована проти патогенних мікроорганізмів, але можуть стати шкідливими при інших умовах. Наприклад, протеолітична активність еластази нейтрофілів, яка полегшує трансендотеліальну міграцію, також може викликати загибель клітин епітелію [93]. Підвищення рівня еластази плазми при травмі пов'язують з прогресуванням у пацієнтів ГРДС і потребою в штучній вентиляції легень [71]. Кодама і співавт. [94] виявили, що концентрація еластази плазми 220 нг/мл і вище при системному запаленні пов'язана з підвищеним ризиком розвитку ГУЛ/ГРДС. Гальмування нейтрофільної еластази поліпшує дихальну функцію при експериментальному септичному ГУЛ [95] і є незалежним предиктором виживання у хворих із сепсисом, ускладненим ГРДС [96]. Однак попередні дослідження не показали такого ефекту в гетерогенних пацієнтів з гострим респіраторним синдромом [97]. Крім того, дефіцит еластази і / або катепсину G супроводжується підвищенням сприйнятливості до грибової інфекції, але зниженою чутливістю до експериментальних ендотоксин-опосередкованих запальних ГУЛ [71]. Інгібування матричних металопротеїназ та еластази запобігає дисфункції легень і знижує сепсис-індуковане ГУЛ у свиней. Колагенази також є в бронхолегеневому змиві пацієнтів з ГРДС [71]. В експериментальних умовах при непрямому ГУЛ, що є при полімікробному сепсисі, ускладненим геморагічним шоком, виявлено, що у відповідь на шок циркулюючі поліморфноядерні нейтрофіли сприяють зниженню апоптозу [98]. На деяких моделях гострого ураження легень було показано [99-101],

що виснаження поліморфноядерних нейтрофілів може зменшувати пошкодження, пов'язані з ГУЛ.

Незважаючи на очевидну важливість нейтрофілів в патогенезі ГУЛ, воно може розвинути у хворих з глибокою нейтропенією, й інфузія гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора (G-CSF) у пацієнтів з пневмонією, що виникла після штучної вентиляції легень, не сприяє його розвитку. Ці та інші дані свідчать про те, що роль нейтрофілів у розвитку ГУЛ може бути швидше реактивною, а не причинною.

Лімфоцити і дендритні клітини знаходяться в легенях в порівняно невеликих кількостях. Лімфоцити складають близько 10 % усіх клітин у БАЗ в здорових людей і їх розподіл такий же, як у периферичній крові. Дендритні клітини, як мієлоїдні, так і плазмоцитарні, є в легенях і слизовій дихальних шляхів, в альвеолярних перегородках і навколо легеневої судин. У цьому місці, ці клітини ідеально розташовані, щоб відіграти центральну роль в імунній відповіді при інфекції/запаленні [102, 103]. При запаленні лімфоцити і дендритні клітини мігрують у легені, де вони не тільки зберігають і зміцнюють місцеву імунну відповідь, а й регулюють її [102, 104, 105]. Дійсно, роль дендритних клітин і лімфоцитів були показані при запальних захворюваннях легень у людей (наприклад, бронхіальна астма, хронічні обструктивні захворювання легень, рак легень і відторгнення трансплантатів) [102] і в ряді експериментальних моделей легеневої інфекції [102, 103]. Проте мало даних є про роль лімфоцитів і дендритних клітин у патофізіології ГУЛ. При ендотоксин-індукованому ГУЛ у мишей лімфоцити разом з нейтрофілами проникають у легені, у бронхоальвеолярному змиві зростає кількість лімфоцитів, нейтрофілів, ІЛ-6, некрозоутворюючого фактора- α та альбуміну [104].

При ГУЛ зростають Foxp3 і CTLA4 в CD4+ Т-клітинах, що спричинює зменшення кількості нейтрофілів за рахунок збільшення вироблення ІЛ-10. Найбільше це спричинене субпопуляцією CD4+CD25+Foxp3+ Т-лімфоцитів [105, 106]. Плазмоцитарні дендритні клітини індукуються та активуються в

легенях мишей з непрямим ГУЛ [107], а також відіграють гальмівну роль у виробленні прозапальних моноцитів через регулювання в легенях продукції макрофагального білка-1. Пошкодження легень виникає при дії шкідливих речовин чи факторів, активно регулюється програмами за участю апоптичних нейтрофілів, реконструкції матриці, зміни фізико-хімічних властивостей альвеолярної рідини та участі численних сигнальних шляхів, які беруть участь у ГУЛ [108]. Було показано, що CD4+ лімфоцити, а також плазмочитарні дендритні клітини відіграють значну роль в цьому процесі, а трансплантація цих клітин може зменшувати легеневі дисфункції у мишей із сепсисом [109, 110].

Дані, отримані в дослідженнях на тваринах, показують, що розвиток ГУЛ може бути спричиненим позитивним тиском у дихальних шляхах та механічною вентиляцією. Це називається вентиляційно-асоційоване пошкодження легень. ГУЛ проявляється як неоднорідний процес. Відносно нормальні альвеоли, які є більш піддатливі, ніж постраждалі альвеоли, можуть стати надмірно розтягнутими заданим дихальним об'ємом, у результаті баротравми (пневмоторакс і інтерстиційне повітря). Альвеоли, які вже пошкоджені в результаті ГУЛ, можуть далі пошкоджуватися в кінці видиху і розширення, спричиненого позитивним тиском під час наступного вдиху (так звана волютравма). На додаток до механічного впливу на альвеоли дані сили сприяють секреції прозапальних цитокінів із подальшим посиленням запалення і набряком легень [111, 112].

ГУЛ призводить до помітного збільшення внутрішньолегеневого шунтування і тяжкої гіпоксемії, що ускладнюється набряком легень. Високий рівень F_iO_2 може призвести до дифузного ураження легень за допомогою вільних радикалів кисню і пов'язаних з ними окисного стресу, що має назву кисневого отруєння. Як правило, якщо концентрація кисню вище 65 % протягом тривалого часу, може розвинути дифузне ураження легень, формування гіалінових мембран і, у кінцевому результаті, фіброзу [113, 114].

ГУЛ також пов'язане з розвитком легеневої гіпертензії. Легенева вазоконстрикція артерій сприяє виникненню вентиляційно-перфузійної невідповідності і є одним з механізмів розвитку гіпоксемії. Нормалізація тиску в легеневій артерії сприяє видужанню, а прогресування легеневої гіпертензії пов'язується з поганим прогнозом. Гостра фаза ГУЛ зазвичай проходить повністю. Рідко розвивається залишковий фіброз легень, коли альвеолярні простори заповнюються мезенхімальними клітинами і новими кровоносними судинами [115]. Очевидно цей процес спричинює інтерлейкін ІЛ-1. Прогресування утворення фіброзу може бути передбачене на початку розвитку на основі підвищення рівня проколагенового пептиду ІІІ (РСР-ІІІ) в бронхоальвеолярному змиві (БАЗ), що за даними біопсії корелює зі збільшенням смертності [116].

1.1.3 Значення цитокіногенезу та нітроксидергічних механізмів у розвитку гострого ураження легень. Цитокіни – група низькомолекулярних білків, які продукуються різними клітинами організму, що володіють різноманітними регуляторними функціями [117]. Найактивніше їх виробляють активовані Т-лімфоцити і макрофаги [118]. До цитокінів відносять: колонієстимулюючі фактори, інтерлейкіни (ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-3, ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-7 і ІЛ-10), інтерферон- α , фактор некрозу пухлин (ФНП)- α , ТФР- β , ІФН- g . Для всіх цитокінів характерна плеотропна дія, тобто вони – поліфункціональні молекули, що діють більше, ніж на одну клітину мішень і стимулюють у різних мішенях неоднакові процеси (ріст, диференціювання, експресію певних мембранних антигенів) [119]. Цитокіни часто називають клітинними гормонами. Спектри біологічних активностей цитокінів імунної системи в значній мірі перекриваються: один і той же процес може стимулюватися в клітині більш ніж одним цитокіном [120]. Сукупність цитокінів імунної системи утворює “каскад цитокінів”. Антигенна стимуляція призводить до секреції цитокінів “першої хвилі” ФНП- α , ІЛ-1 та ІЛ-6, які індукують біосинтез центрального регуляторного цитокіну ІЛ-2, а також ІЛ-3, ІЛ-4, ІЛ-5, ІФН- g та ін. У свою

чергу, цитокіни “другої хвилі” впливають на біосинтез ранніх цитокінів. Такий принцип дії дозволяє не тільки регулювати імунну відповідь, а й ампліфікувати її, залучаючи в реакцію все зростаюче число клітин [121].

У тканинах дія деяких з цитокінів призводить до вибіркової активації і залучення в патологічний процес певного виду лейкоцитів (хемотаксис). За цю своє властивість вони отримали іншу назву – хемокіни. Запальні хемокіни продукуються безліччю клітин різних тканин і мігруючих лейкоцитів у відповідь на бактерійні токсини, запальні цитокіни, такі як ІЛ-1, ФНП- α та інтерферони. Основна функція запальних хемокінів – це накопичення лейкоцитів для захисту організму господаря при інфекції і запаленні. Гомеостатичні хемокіни експресуються в певних ділянках лімфоїдної тканини і направляють рух лімфоцитів і дендритних клітин в імунній системі. Такі хемокіни контролюють перерозподіл і рециркуляцію лімфоцитів у зв'язку з їх дозріванням, диференціюванням, активацією і правильним спрямованим рухом у вторинних лімфоїдних органах [122].

Цитокіни (ФНП- α , лейкотрієни, гальмуючий фактор макрофагів, і багато інших), поряд з тромбоцитами, також мають важливе значення в розвитку ГУЛ [123]. Дисбаланс прозапальних та протизапальних цитокінів, як вважають, відбувається після початку захворювання, наприклад сепсису. Дані, отримані в дослідженнях на тваринах показують, що розвиток ГУЛ може бути спричиненим позитивним тиском у дихальних шляхах легень механічною вентиляцією, що складає вентиляційно-асоційоване пошкодження легень [124].

Накопичення нейтрофілів та активація макрофагів призводить до виділення прозапальних та протизапальних цитокінів. Патогенетичний баланс між про- та протизапальними цитокінами має вирішальне значення у визначенні результату хвороби [125]. Ці клітини і цитокіни безпосередньо пошкоджують епітеліальну цілісність пневмоцитів I типу, які вистеляють альвеоли і беруть участь у газообміні [126, 127]. Виникає дефіцит сурфактанту [128].

Комплекс цитокінів та інших прозапальних сполук ініціює і посилює запальну відповідь при ГУЛ і ГРДС [129]. Прозапальні цитокіни можуть вироблятися місцево в легенях у клітинах запалення, епітеліальних клітинах легень, або фібробластах [130]. Регулювання продукції цитокінів може бути також позалегеновим. Гальмівний фактор макрофагів є регулятором синтезу цитокінів передньою долею гіпофіза, який знаходять у високих концентраціях у рідині бронхо-альвеолярного лаважу пацієнтів. Цей цитокін збільшує вироблення прозапальних цитокінів: інтерлейкіну-8 і ФНП- α і може викликати глюкокортикоїд-опосередковане гальмування секреції цитокінів [131].

Нові дані свідчать про важливість не тільки вироблення прозапальних цитокінів, але й балансу між прозапальними і протизапальними медіаторами [131-133]. У літературі описано декілька ендogenous інгібіторів прозапальних цитокінів, у тому числі антагоністу ІЛ-1-рецепторів, розчинного рецептора до фактора пухлинного некрозу, аутоантитіл проти інтерлейкіну-8, та протизапальних цитокінів, таких як ІЛ-10 і 11. Перерозтягнення альвеол, їх колапс можуть запустити вироблення каскаду прозапальних цитокінів. Проведення захисної вентиляції може викликати пригнічення вироблення як легеневих, так і системних цитокінів [123].

Зміни при ГУЛ спричинюють дисфункцію ендотеліального бар'єру, активацію нейтрофілів і моноцитів/ макрофагів, адгезію молекул експресії і внутрішньоклітинних сигналів, протеазами поліморфноядерних нейтрофілів, ФНП- α і моноцитарним хемоаттрактантним білком (MCP)-1, за участю тучних клітин, принаймні на початку активації лейкоцитів [134].

Ці складні механізми, що лежать в основі ГУЛ, і різноманітність залучених у цей процес клітин, які сприяють зростанню кількості нейтрофілів, адгезії і активації їх, а також трансдукції сигнальних шляхів, таких як активації тирозин-кінази, місцевої транскрипції ядерного фактора- κ B, експресії запальних генів, були описані в ряді експериментальних досліджень та оглядів літератури [135-137]. Добре відомо, що запальні

медіатори відіграють ключову роль в патогенезі гострого ураження легень і гострого респіраторного дистрес-синдрому. Ці медіатори включають ФНП- α , інтерлейкін-1 β , -6 і -10, трансформуючий фактор росту- β , гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор, фактор активації тромбоцитів, селектин і молекули адгезії, комплементарний компонент С5а, нейропептидну субстанцію Р, хемокіни, такі як MCP-1 і запальний білок-1 α макрофагів. Крім того, сприяє пошкодженню вироблення активних форм кисню та азоту з потенційним негативним впливом на функцію легеневого ендотелію та епітелію [137-139].

Нейропептидна субстанції Р володіє прозапальною дією, підвищує проникність судин, діючи через нейрокінін-1-рецептори. Комплементарний компонент С5а є прозапальним хемоаттрактантом, що в експериментальних умовах призводить до збільшення пошкодження легень, так само, як діє рецептор CD40, знайдений на лімфоцитах, моноцитах і дендритних клітинах [140]. Засоби активації лейкоцитів можуть бути складними і різними, а також залучати в процес тучні клітини. Легеневі макрофаги можуть бути залучені в ендотеліальну дисфункцію, пошкодження пневмоцитів 2 типу і вивільнення матричних металопротеїназ [141, 142].

У ряді досліджень показано, що ФНП- α стимулює процес апоптозу [143, 144]. У здоровому організмі апоптоз сприяє видаленню ушкоджених клітинних структур, відновленню цілісності тканин і носить адаптивний характер. ФНП- α підсилює процеси окисного стресу. Зв'язування його з "рецепторами смерті", запускає каспазний каскад. Фермент цього каскаду (каспаза-3) індукує генетичну програму загибелі клітини. Поряд з системною (ендокриноподібною) дією прозапальних цитокінів важливе патогенетичне значення можуть мати їх локальні (аутокринно-паракринні) ефекти, опосередковані синтезом прозапальних цитокінів. За даними експериментальних досліджень, при запаленні спостерігається посилення експресії ІЛ-1 β і ФНП- α [145]. На тлі гіпоксичного стресу відмічено гіперекспресія ІЛ-6.

ФНП- α і ІЛ-1 β сприяють апоптозу, активують металопротеїнази і порушують експресію їх інгібіторів [146].

У розвитку ГУЛ має значення пригнічення ендогенних інгібіторів протизапальних цитокінів: антагоніста рецепторів ІЛ-1, розчинного рецептора ФНП- α , аутоантитіл до ІЛ [147].

Цитокіни забезпечують розвиток повноцінної і адекватної запальної реакції в організмі, здійснюють негативну і позитивну регуляцію запалення, є факторами зміни фаз запального процесу [148].

Поряд з активними формами кисню, істотну роль у патологічних процесах, що розвиваються при ішемії та наступній реперфузії органів, відіграють активні форми азоту та їх метаболіти. До останніх відносяться оксид азоту (NO^\bullet), нітрокисильний аніон (NO^-), катіон нітрозонію (NO^+), пероксинітрит (ONOO^-), діоксид азоту (NO_2^\bullet), нітрит-аніон (NO_2^-), а також інші фізіологічно значимі похідні NO. In vivo оксид азоту генерирується NO-синтазами, які каталізують перетворення L-аргініну в L-цитрулін. Оксид азоту і його метаболіти відіграють важливу роль у великому числі фізіологічних процесів, серед яких регуляція артеріального тиску, тромбоутворення, нейромедіаторна функція, захист організму від патогенів, регуляція апоптозу, нейротрансмісію, синтез АТФ і білків, імунний захист тощо [149, 150]. Оксид азоту і його метаболіти виявляють як цитопротекторні, так і цитотоксичні властивості в моделях ішемії/реперфузії тканин і вільнорадикального (оксидаційного) стресу. Оксид азоту може підвищувати кровотік ішемізованого ділянки за рахунок активації гуанілатциклази, інгібувати агрегацію тромбоцитів, знижувати пероксидне окиснення ліпідів, обриваючи ланцюгові вільнорадикальні реакції [150, 151]. З іншого боку, пероксинітрит – продукт реакції NO з супероксидним аніон-радикалом – здатний окиснювати і нітрозилувати найважливіші клітинні компоненти, а сам оксид азоту здатний інгібувати різні клітинні ферменти [151].

Основними молекулярними мішенями NO є залізовмісні ферменти та білки: розчинна гуанілатциклаза, власне нітрооксидсинтаза (NOS), гемоглобін, мітохондріальні ферменти, ферменти циклу Кребса, синтезу білка і ДНК. Синтез опосередкований взаємодією іонів кальцію з кальмодуліном [152].

Сімейство ферментів, що синтезують NO, знайдено в безлічі клітин легень: в епітеліоцитах бронхів, в альвеолоцитах, в альвеолярних макрофагах, у тучних клітинах, в ендотеліоцитах бронхіальних артерій і вен, у гладких м'язцях бронхів і судин, у неадренергічних нехолінергічних нейронах [153, 154]. Була підтверджена конститутивна здатність епітеліоцитів бронхів і альвеол людини і ссавців секретувати NO [152, 154]. Встановлено, що верхні і нижні відділи дихальних шляхів людини беруть участь в утворенні NO, а в повітрі, яке видихається через трахеостому, кількість газу значно менша, ніж у порожнині носа і рота. Значно страждає синтез ендогенного NO у хворих, які перебувають на штучній вентиляції легень [155]. Звільнення NO відбувається в момент бронходилатації і контролюється системою блукаючого нерва. Синтез газу збільшується за рахунок активації індукованої NOS під впливом цитокінів, а також ендотоксинів і ліпополісахаридів [156].

На даний час найбільше вивчений процес регуляції оксидом азоту тону судинної стінки і його вплив на периферичний кровотік. У легенях оксид азоту виробляється в клітинах ендотелію артерій і вен, нейронах норадренергічної нехолінергічної інгібуючої нервової системи, епітеліоцитах, макрофагах, нейтрофілах [157]. При підвищенні концентрації оксиду азоту у видихуваному повітрі є одним з ранніх і достовірних маркерів запалення дихальних шляхів [158]. У механізмі розвитку гострого респіраторного дистрес-синдрому лежить зростання рівня стабільних метаболітів NO в легеневому експіраті. Це зумовлено стимуляцією прозапальними цитокінами індукбельної NO-синтази. Теоретично зростання метаболітів NO на рівні аерогематичного бар'єру на початкових

стадіях ГУЛ можна розглядати як компенсаторну реакцію ендотеліальної легеневої системи, яка направлена на відновлення кровотоку в умовах «кризи» легеневої мікроциркуляції [157]. У термінальних стадіях ГУЛ вміст метаболітів NO в легеновому експіраті різко зменшується, що свідчить про виснаження метаболічної функції легень і/або про надлишкове окиснення NO в пероксинітрит з розвитком окиснювального стресу. На це вказує наявність кореляційного зв'язку між вмістом у легеновому експіраті метаболітів NO і продуктів окиснювальної модифікації білків [159]. Рядом авторів також показано зростання в гострому періоді гіпоксії та ішемії продукції NO, що розцінюється як компенсаторно-приспосувальна реакція. У даний момент NO функціонує не тільки як регулятор судинного тонуусу, що забезпечує повноцінне кровопостачання життєво важливих органів, але і як нейропротектор [160-162]. Але вже через декілька годин, особливо при реперфузії чи поступленні кисню в ішемізовану тканину, спостерігається протилежний ефект. У цей час у фокусі ішемічного пошкодження інтенсивно накопичується велика кількість супероксидних аніон-радикалів, нейротоксична дія яких багатократно посилюється в результаті взаємодії з молекулами NO і утворення пероксинітритів. Останні, у свою чергу, розпадаються на високореактивні вільні радикали гідроксил-аніон і пероксинітрит – кінцеві ефектори токсичності NO, які викликають нейродеструкцію. Ішемія стимулює індукцію NOS і/або активує її конститутивну ізоформу. Нейротоксичні ефекти у даному разі опосередковані вторинним утворенням пероксинітриту в зоні ішемії [163, 164]. Встановлено, що NO, який потрапляє у гладком'язові клітини, стимулює утворення в них циклічного 3',5'-ГМФ, знижує вміст внутрішньоклітинного кальцію, викликає їх розслаблення, тобто сам вазодилітаторний ефект і опосередковує ефекти інших вазодилітаторів (брадикініну, ацетилхоліну, гістаміну, тощо), інгібує синтез ендотеліну-1, обмежує вивільнення норадреналіну. Крім ефекту вазодилітації, NO має коригуючий вплив на апоптоз, потужну протизапальну і антитромбогенну

дію, має антиоксидантні властивості [165, 166], а його метаболіти, крім того, виявляють неспецифічний захист організму проти бактерій і вірусів, регулюють тонус та просвіт дихальних шляхів [167]. При дослідженні вмісту метаболітів оксиду азоту в легеневих експіратах новонароджених при критичних станах виявлено, що при розвитку легеневого запалення, як специфічного, так і неспецифічного, відбувається активація нітроксидергічних процесів на рівні аерогематичного бар'єра [167].

Встановлено, що при гострому респіраторному дистрес-синдромі терапія інгаляційним оксидом азоту є ефективною, якщо приріст PaO_2/FiO_2 перевищує 15 %. Показанням для повного припинення застосування інгаляційного оксиду азоту є різкий регрес порушень гемодинаміки малого кола кровообігу і оксигенуючої функції легень (PaO_2/FiO_2 більший за 250 мм рт. ст.) [168].

Токсичні властивості NO реалізуються при його гіперпродукції та пригніченні антиоксидантної системи захисту. Серед механізмів токсичного впливу – зниження клітинного фонду АТФ, посилення катаболізму аденіннуклеотидів і трансформація ксантиноксидоредуктази [169].

NO, діючи на мітохондріальне дихання, може індукувати процес апоптозу в деяких типах клітин, включаючи макрофаги, тимоцити, Т-лімфоцити, клітини мієлоїдного ряду і нейрони [170].

Оксид азоту є одним із важливих медіаторів дихальної системи і активно вивчається за останні роки при легеневих захворюваннях. Розслаблення бронхів може реалізовуватися через накопичення оксиду азоту. NO приймає участь у забезпеченні синхронного руху війок епітелію у верхніх дихальних шляхах. Понад 90 % NO у здорових людей утворюється у порожнині носа. Зменшення інтенсивності продукції оксиду азоту може бути одним з механізмів розвитку бронхоконстрикції. Високі концентрації оксиду азоту в клітинах бронхолегеневої системи, що утворюються під впливом цитокінів, ендотоксинів або полісахаридів мікроорганізмів, які викликають запалення, можуть пригнічувати активність cNOS і розчинної

гуанілатциклази. Це супроводжується зменшенням продукції цГМФ і збільшенням вмісту внутрішньоклітинного кальцію, що приводить до спазму дихальних шляхів. NO, який продукується зучастю iNOS підсилює запалення дихальних шляхів, він відіграє важливу роль у загибелі клітин при гіпоксії, може викликати пошкодження ДНК, має прозапальну дію [171].

1.1.4 Роль пероксидного окиснення ліпідів і білків та системи антиоксидного захисту в регуляції легеневих процесів. Процеси вільнорадикального окиснення в нормі здійснюються безперервно в усіх тканинах і клітинах живих організмів і підтримується спеціальними регуляторними системами на низькому базальному рівні. Вони беруть участь у нормальних метаболічних процесах і регуляторних функціях клітини. Добре відома руйнівна дія на мембрани клітин первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Але вплив вільнорадикального окиснення на клітинну резистентність залежить від сукупності дії на мембрани факторів, які перешкоджають чи сприяють впливу токсичних його продуктів [174-178].

Порушення процесів вільнорадикального окиснення ліпідів відіграє важливу роль в патогенезі багатьох захворювань респіраторної системи [179]. Одним з факторів, які ініціюють ПОЛ, є активні форми кисню, що продукуються в процесі фагоцитозу поліморфноядерними лейкоцитами. Порушення продукції фагоцитами метаболітів кисню відносяться до причин розвитку і несприятливого перебігу захворювань системи дихання. У вогнищі легеневого запалення накопичується продукт часткового відновлення кисню – супероксид-аніон. Він і NO піддаються швидкій радикал-радикальній взаємодії з утворенням медіатора окисного клітинного пошкодження – пероксинітриту. Останній викликає пошкодження білків, ліпідів клітинних мембран і судинного ендотелію, збільшує агрегацію тромбоцитів, бере участь у процесах ендотоксемії. Вільні радикали викликають токсичне пошкодження дихальних шляхів, посилюють запалення [180].

Активні форми кисню (АФК) мають і позитивний ефект – вони приймають участь у захисті організму від зовнішніх впливів. У нормі АФК (пероксид водню, гіпохлорит, кисневі радикали – супероксид і гідроксил) беруть участь в окисненні та детоксикації екзо- і ендогенних сполук, мають бактерицидні властивості, впливають на імунітет. Так, у процесі фагоцитозу макрофаги використовують АФК для знешкодження фагоцитованих бактерій. Макрофаги руйнують пошкоджені, старі або імунологічно несумісні клітини, а також сприяють знищенню злоякісних клітин і клітин, уражених вірусами. В усіх цих випадках клітини-захисники швидко поглинають велику кількість O_2 (респіраторний вибух) і використовують його для утворення АФК за допомогою розміщеної в плазматичній мембрані НАДФ-оксидази [179]. Пероксид водню (H_2O_2) має протизапальний вплив на активність нейтрофілів і власне запальний процес при ГУЛ [181].

Захист від пошкоджуючого впливу АФК забезпечують антиоксидантні ферменти: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, ферменти редокс-системи глутатіону. В нормі в системі оксиданти-антиоксиданти знаходяться в рівновазі. Порушення цього балансу в бік оксидантів викликає розвиток оксидативного стресу. При цьому спостерігається надлишкова продукція АФК і недостатність антиоксидантного захисту. Неконтрольована генерація АФК і їх похідних викликає пошкодження білків, нуклеїнових кислот, ферментів, ліпідів, біомембран і веде до розвитку патологічних процесів. Нехватка радикалів також впливає на життєво важливі функції організму [179].

Деструкція легеневої тканини обумовлена і прямою токсичністю АФК. Оксиданти не тільки пошкоджують молекули (білки, ліпіди, нуклеїнові кислоти), але також опосередковують багато процесів, які сприяють розвитку запальних змін у легенях: пошкоджують фібробласти, знижують активність сурфактанту, стимулюють утворення тромбоксану, підвищують проникність епітелію, погіршують функцію війок тощо [176], [179].

Дефіцит таких антиоксидантів, як бета-каротин і вітаміни С і Е, може призвести до підвищення сприйняття до дії оксидантів і виникнення запалення в респіраторній системі [179].

Оксиданти внаслідок нейтрофільного запалення в респіраторній системі призводять до деструкції протеїнів і порушення функції легень [182].

Хронічна гіпоксія також впливає на циркуляцію вільних радикалів у сироватці крові і їх фіксацію в тканинах. Концентрація антиоксидантів у сироватці крові та клітинах тканин з віком знижується і корелює з тяжкістю перебігу захворювання. Ефективне застосування антиоксидантів у випадках, коли патогенез захворювання пов'язаний в основному з ендотоксинами. Аскорбінова кислота гальмує процеси ПОЛ і гіперсекрецію монокінів. Ліпофільні антиоксиданти (вітамін Е і пентаметилгідроксихроман), пригнічуючи активацію ядерного фактору NF- κ B, інгібують цитокін-залежну індукцію нітроксилсинтетази [179].

У новонароджених за умов виникнення окисного та нітроксидергічного стресу відбувається зростання показників оксидантно-прооксидантної системи та накопичення метаболітів оксиду азоту [183]. Окисний стрес має особливе значення в патогенезі ГУЛ. Основою синдрому ГУЛ є неспецифічна запальна реакція на рівні мікросудин легень з порушенням легеневого гомеостазу, що ініціюється активацією нейтрофільних гранулоцитів крові. Особливе значення в патогенезі ГУЛ має окисний стрес, основною причиною якого є дисбаланс у системі «оксиданти–антиоксиданти», що виявляється в надмірному утворенні АФК і ослабленні ефективності антиоксидантного захисту [184, 185]. Внаслідок окисного стресу виникають різноманітні ушкодження у зв'язку з надмірним виділенням в організмі АФК, що ініціює пероксидне окиснення білків та ліпідів [186, 187].

Під час розвитку ГУЛ активація нейтрофілів крові відбувається неспецифічно та незалежно від основного патологічного фону. Легені в умовах нейтрофільної активації є органом ураження першої лінії внаслідок

розвинутого русла мікроциркуляції, де при гіпоксії відбувається секвестрація активованих нейтрофілів. Результатом метаболічної активності нейтрофільних гранулоцитів крові є респіраторний вибух та генерація АФК, ушкоджуюча дія яких спрямована на білки та ліпіди базальних мембран. Надмірну продукцію метаболітів оксиду азоту на початкових етапах розвитку ГДН можна розцінювати як захисну реакцію організму дитини, що виникає внаслідок впливу прозапальних цитокінів, ендотоксинів та оксидантів на індукцибельну NO-синтазу. З іншого боку, надмірна генерація NO стає додатковим джерелом АФК за умов процесів перетворення NO на ONOO-, що активує процеси пероксидного окиснення. Оксид азоту бере участь у процесах оксидації білків. Пероксидне окиснення білків (ПОБ) відбувається одночасно з процесами ПОЛ [183].

ПОЛ є фізіологічним метаболічним процесом, проте під час надмірного виділення АФК в організмі та безпосередньо продуктів ПОЛ до роботи включається антиоксидантна система, яка спрямована на інактивацію наслідків надмірної ліпопероксидації. Під час окисного стресу пряме знешкодження АФК відбувається за допомогою каталази. Під час дослідження виявлено, що при надмірному рівні малонового діальдегіду активується ферментативна ланка антиоксидантної системи, доказом чого є підвищення активності каталази. При розвитку синдрому ГУЛ відбувається інтенсифікація окисної модифікації білків і, як наслідок, накопичення її продуктів у вигляді карбонільних білків. У новонароджених із ГУЛ спостерігається посилення процесів ліпопероксидації з подальшим накопиченням продуктів ПОЛ. Першими у відповідь на окисний стрес у новонародженого з ГУЛ виступають саме білки і лише потім ініціюється ПОЛ [183]. Білки плазми, які піддалися окисній деструкції, мають тривалий період розпаду по відношенню до продуктів ПОЛ, що робить їх перспективними маркерами вільнорадикального окиснення [179, 188].

У новонароджених з дихальною недостатністю встановлено активацію вільнорадикального окиснення внаслідок ініціації процесів ліпопероксидації,

нітрооксигенації, активацію антиоксидантного захисту на рівні аерогематичного бар'єру. Показано, що при дихальній недостатності відбувається збільшення малонового діальдегіду та метаболітів оксиду азоту в легневих експіратах [189].

При ГУЛ оксидативний стрес виникає в альвеолах. За цих умов активність низькомолекулярних антиоксидантів в епітеліальній рідині знижується.

При ГУЛ зростають окислений глутатіон F2-ізопростани, що вказує на окиснювальний стрес. Рівень відновленого глутатіону у пацієнтів істотно не міняється, у той час як концентрація вітамінів А, С і Е, сечової кислоти значно підвищуються. Поліненасичені жирні кислоти, які можуть виступати в якості антиоксидантів, можуть збільшуватися, плазмалогени (plasmalogens – 1-alkenyl-2-acylphospholipids) – значно знижуватися [190].

ГУЛ пов'язано із зниженням концентрації водорозчинних антиоксидантів у дистальних відділах повітроносних шляхів. При цьому такі антиоксиданти, як аскорбінова кислота, урати і глутатіон, можуть ослаблювати пошкодження легень [191].

Дослідження показують, що зміцнення екзогенного сурфактанту селективним інгібітором NF- κ B може бути цінною терапевтичною альтернативою глюкокортикоїдам у лікуванні тяжких запальних захворювань легень новонароджених [192]. Доведено, що NF- κ B пригнічує вироблення прозапальних медіаторів [193].

Стабільні продукти розпаду NO і проміжних видів АФК виявляються у високих концентраціях у рідині БАЗ і випоті в пацієнтів, які мають ризик розвитку або власне гострий респіраторний дистрес-синдром. Рівні АФК корелюють із тяжкістю захворювання і ступенем ушкодження альвеолярного епітелію. Значні рівні нітрованого білка А сурфактанту (nitrated surfactant protein A) і фібриногену виявлені у випоті і плазмі хворих з гострим респіраторним дистрес-синдромом. Антиоксидантні ферменти і скавенджери

(пожирачі) реактивних проміжних форм NO можуть полегшувати тяжкість перебігу ГУЛ [194].

Корисним є застосування альбуміну і сечогінних препаратів (фуросеміду), які відновлюють водний баланс, оксигенацію, гемодинаміку у пацієнтів з ГУЛ [195].

При вивченні антирадикальної і антиоксидантної активності німесулід у великих концентраціях відмічено зниження процесів ПОЛ, зростання поглинання супероксидних аніонів, рівня глутатіон-S-трансферази (GST) в печінці та глутатіонредуктази в нирках, зменшення явищ запалення [196].

ГУЛ і його найбільш тяжка форма, ГРДС незалежно від основного захворювання, мають дуже схожі клінічні і патологічні прояви. По суті, ці два синдроми відображають тяжке ураження, що веде до дисфункції і порушення бар'єрних властивостей легеневого епітелію і ендотелію в результаті розвитку нерегульованої гострої запальної реакції. Одним з перших проявів є активізація легеневого ендотелію і макрофагів (альвеолярних і інтерстиціальних), зростання регуляції молекул адгезії, а також продукція цитокінів та хемокінів, які викликають масове зменшення нейтрофілів у легневих мікросудинах [197]. Ці клітини переходять через ендотелій і епітелій в альвеолярний простір і знешкоджують різні цитотоксичні і прозапальні сполуки, у тому числі протеолітичні ферменти, АФК та азоту, катіонні білки, ліпідні медіатори і запальні цитокіни. При цьому замикається порочне коло шляхом залучення додаткових запальних клітин, які, у свою чергу, виробляють більше цитотоксичних медіаторів, що в кінцевому підсумку призводить до глибокого ураження альвеоло-капілярної мембрани і розвитку дихальної недостатності. У даний системний процес мікросудинної дисфункції залучаються різні органи, включаючи серце, нирки, кишечник, печінку, м'язи, мозок, що проявляється поліорганною дисфункцією. Одним з важливих аспектів ГУЛ/ГРДС є оксидатійне пошкодження легень, що зумовлене АФК [197, 198].

Біологічно активні форми кисню включають супероксиданіон-радикал (O_2^-), перекис водню (H_2O_2), гідроксил-радикал (OH^\cdot), hypohalous кислоти, такі як $HOCl$. Активні форми азоту, похідні оксиду азоту, у тому числі пероксинітрат ($ONOO^-$), також причетні до окислення (нітрування) білків і ліпідів. Активні форми кисню та азоту можуть призвести до пошкодження клітин за допомогою різних механізмів, а саме: прямого пошкодження ДНК, пероксидного окиснення ліпідів з утворенням вазоактивних і прозапальних молекул, таких як тромбоксан, окиснення білків (у першу чергу дія на сульфгідрильні групи), які змінюють активність білка, що призводить до вивільнення протеаз і інактивації антиоксидантів і антипротеазних ферментів, зміни транскрипційних факторів, таких як активатор протеїну-1 і ядерний фактор (NF)- κB , що призводить до підвищеної експресії прозапальних генів [197, 180, 183].

Для нейтралізації вільних радикалів і протидії шкідливому впливу АФК, що утворюються при нормальному обміні речовин, клітини експресують ряд ендогенних ферментних антиоксидантів, таких як супероксиддисмутаза, каталаза і глутатіонпероксидаза [199].

Тим не менше, ці антиоксиданти швидко перевантажуються під час гострої запальної реакції. При розвитку ГУЛ є багато потенційних джерел АФК, у тому числі лейкоцити (нейтрофіли, моноцити і макрофаги), паренхіматозні клітини (ендотеліальні і епітеліальні клітини, фібробласти і міоцити), циркулюючі окиснювальні ферменти (ксантинооксидази) та інгаляційні гази з високою концентрацією кисню, які часто використовуються під час штучної вентиляції легень. Пацієнти з ГУЛ мають підвищений рівень H_2O_2 у конденсаті видихуваного повітря, а в рідині бронхоальвеолярного лаважу міститься надлишок окиснювально модифікованих білків у поєднанні з відносною недостатністю антиоксидантних молекул, таких як глутатіон [197].

Лейкоцити, в основному нейтрофіли і макрофаги, як правило, вважаються самим величезним джерелом АФК у цій ситуації. Лейкоцити

переносять дві ферментні системи – NADPH-оксидази і синтази оксиду азоту (NOS) [200], які можуть генерувати багато активних форм.

Велика кількість активованих нейтрофілів у легенях при ГУЛ/ГРДС служать в якості основного джерела АФК. Різноманітні прозапальні сполуки, включаючи ліпополісахариди, цитокіни, хемокіни, фрагменти комплементу, фактори згортання крові, ліпідні медіатори, кількість яких збільшується у пацієнтів з ГУЛ/ГРДС, здатні активувати нейтрофіли для генерації АФК [197].

Очевидно також, що “непрофесійні” фагоцити, у тому числі ендотелій [201, 202], епітелій [203], фібробласти [204] і клітини гладкої мускулатури [205] підвищують здатність оксидаз генерувати фізіологічно важливу кількість АФК. Інші джерела АФК включають ланцюжок мітохондріального транспорту електронів, цитохрому Р450 [206] і ксантинооксидази [207, 208]. Інгаляційні окислювачі з високою концентрацією кисню, що використовується для штучної вентиляції легень можуть сприяти формуванню АФК.

Різні клітинні компоненти можуть піддаватися окислювальній модифікації, включаючи ліпіди і білки мембран, цитозоль та ядра. Клітинні мембрани, особливо плазматичні мембрани, є першими мішенями АФК. Жирні кислоти бічних ланцюгів мембранних фосфоліпідів в умовах окисного стресу піддаються перекисному окисненню. Мембранна плинність (текучість) залежить від ліпідного складу плазматичної мембрани, а також змін у її складі, які відбуваються при окисненні, значно порушуючи функції мембрани. При гострому запаленні, окиснення компонентів ендотелію або плазматичної мембрани епітелію може сприяти перерозподілу нейтрофілів у легенях, порушенню бар'єрної функції цих клітин, що спричинює витік хемокінів та інших хемоаттрактантних молекул в судинне простір. Крім того, вплив оксидантів може призвести до підвищення адгезії лейкоцитів або окисної модифікації компонентів ендотеліальної мембрани [209].

Антиоксидант α -токоферол знижує експресію молекул адгезії на нейтрофілах і активованих клітинах ендотелію [197].

Зміни цитозоллю та ядра, ініційовані окиснювачами, можуть також сприяти розвитку запалення. Підвищення рівня цитокінів та хемокінів, таких як ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-6 і ІЛ-8 є ознакою, характерною для пошкодження легень різної етіології [23].

Експресія цитокінів, у першу чергу, регулюється на рівні транскрипції. NF- κ B є ДНК-зв'язуючим фактором, який стимулює транскрипцію різних цитокінів, які беруть участь в гострому запаленні, і активується при ГУЛ. Існує доказ того, що NF- κ B активується при ГУЛ/ГРДС і може регулюватися змінами в експресії І κ B, які, у свою чергу, залежать від оксидантів, що виробляються, наприклад, ксантинооксидази. Спроби послабити пошкодження легень були спрямовані на модуляцію сигнальних шляхів, що призводять до збільшення продукції запальних цитокінів/хемокінів, а також на відновлення балансу окиснювач/антиоксидант для обмеження ступеня окиснювального пошкодження клітин. Одною із теорій (стратегій) обмеження оксидативного пошкодження легень є відновлення балансу окиснювачі/антиоксиданти шляхом збільшення внутрішньоклітинного пулу антиоксидантів. Інша стратегія полягає у збільшенні внутрішньоклітинних депо глутатіону. Основна проблема цієї стратегії полягає в тому, що глутатіон повинен бути метаболізований позаклітинно перед тим як буде поглинутий клітиною. Одним з методів збільшення внутрішньоклітинного рівня глутатіону є введення його попередників, наприклад N-ацетилцистеїну (НАЦ). [197, 210, 211].

При запаленні дихальних шляхів, викликаному введенням ендотоксину мишам, введення α -токоферолу значно зменшує число нейтрофілів в інтерстиціальному просторі легень і запобігає пошкодженню легень, знижує активність лактатдегідрогенази в дихальних шляхах, набряк легень [212].

α -токоферол (або вітамін Е) є природним антиоксидантом, який присутній у всіх клітинних мембранах у низьких концентраціях. Він має цитопротекторні властивості, які пояснюють його здатність збирати дуже активні форми кисню, тим самим ослаблювати процеси ПОЛ клітинних мембран [212-214]. Дійсно, у моделі пошкодження легень, викликаною гіпоксією, у щурів [215] застосування ліпосомальних α -токоферолів інгібує процеси перекисного окиснення ліпідів в тканині легень і відновлює фосфоліпідний склад легень. Ці ефекти були пов'язані з поліпшенням оксигенації і біомеханіки легень. α -ТОС має додаткові властивості, включаючи можливість модулювати імунну відповідь, збільшуючи клітинний і гуморальний імунітет, гальмує протеїназу С, яка бере участь у ранніх стадіях багатьох прозапальних сигнальних шляхів [197].

α -токоферол послаблює запальну реакцію, міграцію нейтрофілів, вироблення в альвеолярному просторі АФК і запальних цитокінів. α -ТОС не впливає на транслокацію NF- κ B, регуляцію транскрипції або експресії цитокінів. α -ТОС перешкоджає цитотоксичному і оксидативному пошкодженню клітин ендотелію і епітелію, гальмує адгезію нейтрофілів до ендотелію [212].

При ГУЛ прооксиданти утворюються у різних клітинах легень, включаючи ендотеліальні, альвеолярні і епітеліальні клітини, а також легеневі макрофаги і нейтрофіли. Прооксиданти змінюють клітинні білки, ліпіди, вуглеводи і ДНК, викликаючи порушення їх функцій, наприклад, окиснення ліпідів змінює проникність мембран [216].

Звільнені з нейтрофілів ферменти, головним чином еластаза, колагеназа, ушкоджують інтерстицій, розчиняючи еластин, колаген, фібронектин та інші білки. Фібронектин забезпечує зчеплення між собою клітин і неспецифічну опсонінову захисну активність організму. Вільні радикали, що виділяються разом з ферментами, ушкоджують клітинні мембрани, викликаючи пероксидацію ліпідів, а також руйнують гіалуронову кислоту. Проникність мембрани зростає ще більш [217-219].

Ненасичені жирні кислоти, що утворюються при гідролізі хіломікронів, ушкоджують альвеолокапілярну мембрану. Приєднується і непрямий ефект продуктів розпаду арахідонової кислоти (простагландини, тромбоксани, лейкотрієни), які збільшують проникність мембран та викликають спазм легеневих вен і підсилюють тромбоутворення [220, 221].

Незважаючи на велику кількість досліджень різних моделей ГУЛ, залишаються відкритими питання механізмів розвитку даного синдрому.

1.2 Апоптоз і його роль у патогенезі легеневих захворювань. Сучасний стан проблеми

1.2.1 Загальна характеристика шляхів реалізації апоптозу. Апоптоз, або загибель клітин, спрямований на збереження нормального функціонування біологічних систем [222]. Основними регуляторами апоптозу є члени сімейства Bcl-2 – проапоптозний білок Bax і антиапоптозний білок Bcl-xl[223]. Проапоптозні члени цього сімейства діють на зовнішню мембрану мітохондрій і індуюють вихід цитохрому C та інших мітохондріальних молекул, що беруть участь у реалізації апоптозу [224-226]. Антиапоптичні члени сімейства блокують дію проапоптозних білків. Найважливіша роль у здійсненні клітинної загибелі належить каспазам – сімейству еволюційно консервативних протеаз, які специфічно розщеплюють білки після залишків аспарагінової кислоти. Каспаза-3 є ключовим медіатором і кінцевим ефектором апоптозу [227]. Цей представник сімейства цистеїнових протеаз відповідає за активацію фактора фрагментації ДНК, який розщеплює ДНК на міжнуклеосомні фрагменти. З цього моменту процес загибелі клітини стає незворотнім [228].

Інгібування апоптозу альвеолярних нейтрофілів має місце в патогенезі ГУЛ. Апоптоз клітин при ГУЛ можуть регулювати сфінголіпіди. Виявлено, що внутрішньоклітинні рівні керамідів і фосфорно-p38 мітоген активованої протеїнкінази були підвищені в альвеолярних нейтрофілах у хворих з ГУЛ.

Активация нейтральной сфингомиелинази/сфингозин-1-фосфатного шляху призводить до фосфорилування р38 мітоген активованої протеїнкінази, пригнічення апоптозу нейтрофілів, які можуть сприяти розвитку ГУЛ [229, 230].

Збільшення циркулюючого і тканинного рівня інгібітора активатора плазміногену 1 (РАІ-1) часто присутнє при тяжких запальних станах, пов'язаних з активацією нейтрофілів і їх накопиченням і корелює з поганим клінічним наслідком. Додавання РАІ-1 у культурах нейтрофілів зменшує швидкість спонтанного і ФНП- α -пов'язаного апоптозіндукуючого ліганд-індукованого апоптозу клітин. Вплив РАІ-1 на життєздатність клітин пов'язаний з активацією антиапоптичних сигнальних шляхів [231].

Існують два основні шляхи апоптозу в клітині: мітохондріальний шлях і шлях через рецептори апоптозу.

1. Рецептори апоптозу – сімейства білків CD95 (Аро-1 або Fas) і ФНП- α (фактор пухлинного некрозу). ФНП- α високо цитотоксична молекула, використовувалася як ліки проти раку. ФНП-R1 рецептор широко поширений і тому не може бути вибірконим. Інші представники цього сімейства (не всі) мають домен клітинної смерті (DD) – домен білок-білкової взаємодії зв'язується з білком адаптором, таким як FADD. Активация рецепторів апоптозу лігандами (наприклад, CD-95L і ФНП- α призводить до активації каспаз-8, запускаючи каскад реакцій, що ведуть до апоптозу [232].

2. Мітохондріальний шлях. Мітохондрії виконують центральну роль в апоптозі, при цьому спостерігається збільшення проникності мітохондріальної мембрани. Баланс між про- та антиапоптозними членами сімейства Bcl-2 регулює вихід проапоптозних речовин з мітохондрій, що ведуть до запуску апоптозу, таких як AIF, ендонуклеаза G, Smac / DIABLO і цитохром С. Витік цитохрому С з мітохондрії призводить до утворення апоптосом в цитоплазмі, яка активує каспазу-9 і запускає клітинну смерть [233, 234].

Обидва шляхи призводять до активації каспаз і запуску каскаду реакцій, що призводять до загибелі клітини.

Багато ізоформ каспаз ведуть до апоптозу. Вони можуть активуватися двома шляхами: через рецептори апоптозу і мітохондрії. Відомо 14 каспаз, які поділяються на ініціатори, ефектори та стимулятори. Ініціатори (каспаза-8 і -9) розчеплюють і активують каспази-ефектори (каспаза-3). Ефектори розщеплюють різні білки, що веде до загибелі клітини. Активація каспаз веде до запуску протеолітичного каскаду реакцій, що ведуть до загибелі клітини. При цьому одні каспази активують інші [235].

Активация каспаз веде до різних наслідків: каспаза-9 руйнує ядерні пори, що веде до проникнення в ядро каспаз 3 і 7. Каспаза-3 розщеплює інгібуючу субодиницю ICAD. Випуск CAD приводить до розщеплення ДНК між нуклеосомами. Каспази ведуть до реорганізації цитоскелету і розпаду клітини на апоптозні тільця [173].

Прояви і механізми апоптозу тісно пов'язані з механізмами інших актуальних явищ (наприклад, активацією клітин і зв'язаної з нею сигнальною трансдукцією). До найважливіших регуляторів апоптозу відносяться індуктори загибелі клітини, зокрема, поверхневий рецептор Fas (CD95, APO-1) і білки сімейства Bcl-2, які інгібують апоптоз [236].

Анексин А5 не виділяється з нормальних клітин; джерелом позаклітинного анексину А5 є апоптотичні та зруйновані клітини. Він може зв'язуватися з негативно зарядженими фосфоліпідами, у тому числі з фосфатидилсерином, експозиція якого на клітинній мембрані є одним з ранніх ознак апоптозу [237]. Ця властивість рекомбінантного анексину А5 використовується для визначення і підрахунку апоптотичних клітин у периферичній крові. Білки сімейства Bcl-2 займають центральне місце у вивченні регуляції процесу апоптозу. Вони локалізовані у внутрішніх клітинних мембранах: мітохондрії, ендоплазматичній сітці, ядерній мембрані. Розчинна форма Bcl-2 не може взаємодіяти з мембраною. У даному випадку зберігається здатність білків взаємодіяти з іншими білками

цього сімейства, особливо з білками-індукторами апоптозу, нейтралізуючи їх ефект. Протизапальна функція білків Bcl-2 і Bcl-x1 полягає в захисті ендотеліальних клітин шляхом інгібування ядерного фактора NF- κ B і зниження вироблення прозапальних генів [238]. Bcl-2 і Bcl-x1 забезпечують цитопротекторні реакції, що протидіють проапоптотичним і прозапальним пошкодженням, і відновлюють фізіологічний протизапальний фенотип ендотеліальних клітин. Розчинний Apo-1/Fas виступає як інгібітор Fas-опосередкованого апоптозу. Підвищення в крові розчинної форми антиапоптотичного білка Bcl-2, який перешкоджає експресії судинної молекули адгезії 1-го типу на активованому ендотелії аннексину A5, що має антитромботичні властивості, також можна розцінювати як захисний механізм, направлений на зменшення активації ендотелію і зниження тромбогенного потенціалу крові [239].

При вивченні апоптозу альвеолярних лімфоцитів у пацієнтів з гіперчутливим пневмонітом встановлено зниження відсотку апоптотичних лімфоцитів, зростання пропорції у БАЗ лімфоцитів, які позитивні до Fas антигену, виявлено більшу внутрішньоклітинну продукцію індукційного антиапоптотичного гену Bcl-x1 у легеневих лімфоцитах. Апоптоз легеневих лімфоцитів менший при пневмоніті гіперчутливості, ніж у здорових людей. Це можна пояснити, принаймні частково, за рахунок збільшення розчинної Fas, анти-апоптотичного гену і Bcl-x1 [240].

Відомо, що сила і якість імунної відповіді макроорганізму залежать від співвідношення процесів апоптозу та проліферації клітин. Виникнення багатьох тяжких захворювань пов'язують з порушенням програмованої загибелі клітин. В останні роки виділяють декілька її типів: апоптоз, аутофагічна загибель і запрограмований некроз. Значне посилення активаційного апоптозу можна охарактеризувати як тенденцію до розвитку імунодефіцитного стану, що є наслідком запального процесу [241, 242]. У даний час вважають, що тип дисрегуляції процесу смерті клітин крові зумовлює характер розвитку запального процесу, його вихід та терапевтичну

тактику ведення хворого [243]. Встановлено, що прискорення процесу апоптозу лімфоцитів є основною причиною імуносупресії при септичному стані [244]. Апоптоз Т-лімфоцитів при септичному шоці перевершує таку при сепсисі. Цей процес супроводжується зменшенням синтезу інтерлейкіну-2 без зміни секреції гамма-інтерферону і ФНП- α . Швидкість апоптозу корелює з рівнем ІЛ-6 і експресією на лімфоцитах каспази-9 [245]. Вважається, що посилення апоптозу пов'язано з дисбалансом процесу ко-стимуляції Т-клітин, клітинною гіпоксією. У результаті виникає порушення функції мітохондрій, від яких залежить функція і життєздатність клітини [246]. Збільшується вміст HIF NF- κ B, що є відображенням прозапального профілю та дисфункції лімфоцитів [247].

Після отримання сигналу до апоптозу в клітині відбувається дві послідовні «події»: перша, негайна, у мембрані (за участю рецепторів загибелі) і друга – протягом декількох годин, яка призводить до знищення клітини, що полягає в активізації каскаду внутрішньоклітинних протеаз (каспаз) [248].

Рецептори загибелі розташовані на поверхні клітини і служать сенсорами позаклітинних сигналів до апоптозу. Ці сигнали подаються рецептор-специфічними лігандами, які можуть бути зчеплені з мембраною або знаходитися в розчинній формі. Взаємодія ліганд-рецептор миттєво привертає до зони інтересу молекули, які перетворюють сигнал до апоптозу. Рецепторами загибелі є Fas (C95, APO-1), ФНП R1 (tumor necrosis factor receptor 1) і відповідні їм ліганди (Fas-ліганд і ФНП- α) [249].

Fas-рецептори (Fas-R) присутні на багатьох клітинах, у той час як Fas-L в основному розташовані на Т-лімфоцитах. Основна функція Fas-регульованого шляху розвитку програмованої загибелі клітин полягає в завершенні імунної відповіді за допомогою стимуляції делеції активованих зрілих Т-лімфоцитів [250]. Це також необхідно для попередження запалення в «імунно-зацікавлених» тканинах: очах, мозку, гонадах і т. д., де експресія FasL дуже висока. Іншою важливою функцією зазначеного каскаду є

знищення клітин, інфікованих вірусом, або трансформованих клітин. Мутації Fas-R або Fas-L викликають проліферацію лімфоїдної тканини і розвиток аутоімунних захворювань. При зв'язуванні Fas-L і Fas-R відбувається тримеризація рецепторів і накопичення внутрішньоклітинного домену смерті [251]. Це призводить до мобілізації цитоплазматичного білка FADD (Fas-associated death domain), який в подальшому активує каскад каспаз, що в кінцевому рахунку призводить до загибелі клітини. Кожен елемент цього процесу дуже жорстко контролюється великою кількістю відповідних молекул [248].

ФНП- α є розчинним цитокіном, який синтезується активованими Т-лімфоцитами і макрофагами у відповідь на запалення та інфекцію. Після його зв'язування з ФНП-рецепторами (ФНП-R1) відбувається практично те ж саме, що і при зв'язуванні Fas-R і Fas-L, з тією лише різницею, що мобілізується білок TRADD (TNF receptor-associated death domain). Це, у свою чергу, призводить до посилення транскрипції фактора NF- κ B і активатора плазміну-гена-1 (AP-1). Крім Fas-і TNF-рецепторів виявлено ряд інших рецепторів загибелі клітин: DR3 (death receptor 3), DR4, 5 і 6 [248, 252].

Різні рецептори загибелі клітини активують єдину для всіх тканин систему «страсти» клітини – каскад каспаз, що в кінцевому підсумку призводить до деградації клітин. Ці білки існують в цитоплазмі у вигляді проферменту з низькою каталітичною активністю, але, будучи активовані один раз, вони грають основну роль в початковій і ефекторних стадіях апоптозу [248].

Каспази можуть бути об'єднані в кілька груп за їх специфічністю до субстрату і функцій [253]. Першу групу представляють «початкові» ферменти (каспази-8, -9, -10), які необхідні для початку та поширення сигналу клітинної загибелі. У другу - можна об'єднати аналоги CED-3 (каспази-2, -3, -6, -7), які залучаються до стрімкого процесу розчеплення структурних компонентів і елементів життєзабезпечення клітини

(наприклад, PARP – полі-АДФ-рибоза-полімераза), що беруть участь у регуляції міжгенних взаємодій, відновлення ДНК та ядерної мембрани. Також до цієї групи належить і ряд ферментів, які приймають участь у ДНК-фрагментації. Третя категорія каспаз (1, 4, 5 і 13), ICE-подібні, можуть бути залучені в рівній мірі в процес клітинної смерті і запалення. Подібно тромбо- і комплементоутворенню, каскад каспаз діє за аутокаталітичною схемою, приводячи до значного посилення початкового сигналу до апоптозу. Цей процес регулюється різними кофакторами (фактор-1 активації протеаз апоптозу – APAF-1), інгібіторами посттрансляційного рівня, «білок-білок» взаємодією. Основною діючою особою в апоптозі є мітохондрії, які розташовуються на вершині каспазного каскаду [248, 254, 255].

Процес клітинної проліферації та виживання клітин підтримується протоонкогенами, зокрема Bcl-2. Прийнято виділяти з'єднання, що сприяють виживанню клітини (Bcl-2, Bcl-x1, Bax-1, Bcl) і призводять до загибелі клітини (Bax, Bak, Bad). Bcl-2 кодує синтез мембраносоціюваного білка, розташованого на мітохондріальній і перинуклеарній мембранах. Роль цього з'єднання полягає в підтримці процесів клітинного виживання і проліферації [256, 257].

Особливе значення в регуляції запрограмованої загибелі клітин надається генам, які пригнічують пухлини. Найбільш важливим з них є p53. Його похідна індукує клітинну загибель як відповідь на пошкодження ДНК. Активація p53 призводить або до апоптозу, або до зупинки клітинного циклу. У другому випадку відбувається залучення до процесу безлічі регулюючих білків, таких як інгібітор p21 циклін-залежної кінази (Cdk) і продукту гена ретинобластоми (Rb) [248, 258].

Особлива роль у регуляції процесів клітинної смерті належить NO. Відомо, що NO володіє прозапальним ефектом і впливає на імунну систему [259, 260, 261]. NO посилює потенціал мембрани мітохондрій і змінює хімічну структуру цитохрому С. У результаті цього відбувається пошкодження структури цитохрому і вивільнення його з мітохондрій, що

активує каспазу-3. З іншого боку, існує думка про антиапоптозний ефект оксиду азоту, який стабілізує каспази, перешкоджаючи їх активації та блокуючи Fas-індукований шлях розвитку програмованої та індукованої загибелі клітин [248, 262].

1.2.2 Сигнальні шляхи запуску і розвитку апоптозу. Кількість найрізноманітніших факторів, які індукують апоптоз клітин, постійно збільшується, що вказує на неймовірну складність даного процесу. Пусковим етапом індукції апоптозу є порушення мітохондріального дихання, виникнення окисного стресу. Ряд досліджень підтверджують киснево-перекисний механізм апоптозу [263, 264]. У багатьох апоптозних нейронах відбувається втрата кардіоліпіну – легко окиснюваного фосфоліпиду, що входить до складу внутрішньої мембрани мітохондрій. Показано, що вміст кардіоліпіну знижується перед зникненням у цих клітинах мітохондрій, причому до моменту втрати кардіоліпіну маса мітохондрій зменшується незначно. Зникнення кардіоліпіну конкурентно пов'язано з продукцією мітохондріями АФК і збільшенням пероксидації ліпідів, що вказує на участь в цих процесах вільних кисневих радикалів [265].

Звільнення цитохрому С з мітохондрій апоптотичних клітин проходить у 2 стадії. На першій стадії спостерігається відділення цитохрому с від внутрішньої мембрани мітохондрій, де він асоційований з кардіоліпіном за рахунок електростатичної та/або гідروفобної взаємодії. Це відділення відбувається після окисної модифікації кардіоліпіну. Подальше підвищення проникності зовнішньої мембрани мітохондрій під дією онкобілка Вах призводить до вивільнення цитохрому С з мітохондрій [266]. Відомо про втрату молекулярної взаємодії між цитохромом С і кардіоліпіном, зумовленої ПОЛ [263]. Саме модифікація кардіоліпіну в умовах ПОЛ індукує вихід цитохрому С з мітохондрій у цитозоль, що є одним з важливих початкових етапів апоптозу.

Вивільнення цитохрому С з мітохондрій сприяє підтримці порушення транспорту електронів у дихальному ланцюзі, знижує утилізацію O_2 мітохондріями і, отже, сприяє накопиченню його в клітині і стійкості необхідного для апоптозу стану окиснювального стресу спочатку в мітохондріях, а потім у цитоплазмі і всередині всієї клітини. До того ж, позитивний зворотний зв'язок з підтримки окисного стресу в клітинах реалізується, очевидно, і по інших каналах. Одним з них є АФК-залежне пошкодження мітохондріальної ДНК (мтДНК). Інший канал такого зворотного зв'язку може діяти шляхом окисного пошкодження мтДНК-полімерази, що повинно призводити до зменшення реплікації мтДНК [267] і відповідно ослаблення мітохондріальної бази. Отже, у мітохондріях існують різні способи підтримання виниклого в них окислювального стресу не нижче якогось певного рівня.

У мітохондріях знайдено специфічний, життєво необхідний для них ген тиоредоксин-2 (Трх-2), що регулює апоптоз. Тиоредоксин входить у систему захисних механізмів клітини і при окисному стресі активність його підвищується [268]. Зазначене означає, що необхідний для апоптозу початковий рівень окисного стресу в мітохондріях в якійсь мірі регулюється (обмежується) тиоредоксином, виконуючим фактично роль антиоксиданту, а проапоптотичний сигнал може виникнути лише в разі зростання окисного стресу в мітохондріях понад порогових значень [263].

Показано, що в іморталізованих гепатоцитах щура трансформуючий фактор росту $\beta 1$ одночасно зі стимуляцією утворення АФК мітохондріями стимулює їх утворення і ланцюга переносу електронів за участю цитохрому Р450. Інгібування одного з цих джерел АФК порушує розвиток апоптозу, засвідчуючи про необхідність обох шляхів для завершення апоптозу, індукованого зазначеним фактором росту [263]. Відомо, що у культивованих клітинах, в яких відсутня мітохондріальна ДНК, порушені дихальні процеси, але не відбувається типового апоптозу [269].

Ліпо- і циклооксигеназний шлях окислення арахідонової кислоти пов'язані з продукцією АФК і ліпопероксидації, що сприяють реалізації киснево-перекисних механізмів апоптозу і канцерогенезу шляхом підвищення в нормальних клітинах дисбалансу про- і антиоксидантів. Інгібітори ліпо- і циклооксигеназ повинні протидіяти цим процесам в нормальних клітинах, а в пухлинних клітинах такі інгібітори можуть призводити до апоптозу [264]. Дослідження впливу інгібіторів NADPH-оксигенази, ксантиноксидази і ліпооксидаз на опосередкований катіонними ліпосомами апоптоз макрофагів показало, що інгібітори ліпооксидаз запобігають зниженню вмісту ДНК, фрагментації ДНК та утворенню АФК, викликаних ліпосомами [263].

Надлишок простагландину E2 також пригнічував проліферацію клітин і індукував їх апоптоз. Механізм його дії такий: активація аденілатциклази – підвищення рівня в клітині циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ) – активація цАМФ мітохондріального дихання та утилізації O₂ мітохондріями – зниження концентрації O₂ в клітині [263].

Безумовний інтерес викликають матеріали про захисну роль білків теплового шоку (hsp), зокрема hsp70, від різних цитотоксичних факторів, у тому числі і від тих, які викликають апоптоз, враховуючи відомі дані про hsp70, як антиоксидативний фактор. У нормальних клітинах, наприклад у лімфоцитах, окислювальний стрес збільшує експресію цих захисних білків [270]. Збільшення внутрішньоклітинного вмісту hsp70 може привести клітини пухлини до апоптозу A1, виснаження пулу білка hsp70 – до апоптозу A2 [263].

Виявлено, що апоптозна загибель пухлинних клітин відбувається незалежно від каспаз і білка-супресора p53, а протизапальні білки Bcl-2 та Bcl-x1 не рятували від загибелі, викликані антисмисловими кДНК hsp70 [263].

Обробка клітин Jurkat перекисом водню викликала загибель клітин, а трансфекція білка hsp70 перешкоджала розвитку таких ранніх апоптозних

проявів як деполаризація мітохондрій, вивільнення з них цитохрому с та ін. Очевидно, що білок hsp70 може пригнічувати ферментативний цикл каспази – 3 і -7 [271].

На думку авторів, hsp70 є захисним засобом від окиснювального стресу, він протидіє апоптозу A2 пухлинних клітин, але може, при досить високому вмісті, знизити в них «канцерогенезний» дисбаланс до рівня, відповідного апоптозу A1. При виснаженні hsp70 створюються реальні умови для індукції апоптозу A2 пухлинних клітин; пригнічення синтезу hsp70 в нормальних клітинах може в принципі привести до підвищення в них «канцерогенезного, окисдантного» дисбалансу [263].

У ході розвитку життя біологічні організми поетапно адаптувалися до поступово зростаючої концентрації кисню в земній атмосфері. На кожному етапі одні білки або групи білків стали виконувати функцію захисту, інгібіторів токсичного окисної дії кисню і його активних форм, а інші зміцнилися в ролі руйнівників молекул, структурних утворень і цілих клітин, якщо вони не відповідали загальному напрямку еволюційного розвитку і в цьому сенсі могли вважатися дефектними. Обидві групи білків діяли тільки в межах сформованих до певного етапу розвитку діапазону дисбалансів про- і антиоксидантів усередині клітин [263].

Резюме

1. Гостре ураження легень – поліетіологічне захворювання із стабільно високим рівнем захворюваності і летальності, що вимагає детального вивчення механізмів його розвитку на різних рівнях організації задіяних структур.

2. На даний час при гострому ураженні легень недостатньо вивчено співвідношення порушень кисневого обміну, процесів пероксидного окиснення ліпідів, білків, нітроксидергічних процесів та функціонального стану системи антиоксидантного захисту, клітинної й гуморальної ланок імунного захисту, цитокінового статусу та закономірностей розвитку ендотоксикозу.

3. Відомі патогенетичні ланки гострого ураження легень не в повній мірі пояснюють характер розвитку патологічного процесу в легенях та системному кровотоці, тому потребують дослідження молекулярних механізмів загально-деструктивних явищ при даному синдромі.

4. Існує необхідність встановлення взаємозв'язків між реалізацією некробіотичних процесів, апоптозу та метаболічними змінами при гострому ураженні легень, що дозволить вийти на новий рівень обґрунтування профілактики та лікування його.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Робота виконана на базі кафедри клініко-лабораторної діагностики, Центральної науково-дослідної лабораторії державного вищого навчального закладу “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України” (свідоцтво про атестацію № 000478 від 17.12.2007 р.), клініко-діагностичної лабораторії КЗ ГОР “Тернопільська університетська лікарня” (свідоцтво про атестацію № РХ – 500/07 від 12.03.2007 р.) і 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.).

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.

2.1 Загальна характеристика моделей гострого ураження легень

Моделювання ГУЛ на тваринах є дуже важливим, оскільки дозволяє прослідкувати механізми, які лежать в основі патогенезу даного синдрому [272-277]. Крім того, існує невизначеність того, яка з доступних експериментальних моделей найкраще відображає зміни, що протікають у людському організмі [278].

Більшість еспериментальних моделей ГУЛ базуються на основних клінічних розладах, що протікають при даній патології в людини. До них відносяться сепсис, багаторазові переливання, множинні травми, аспірація шлункового вмісту, реперфузія ішемізованих тканин [278-282]. Протягом останніх років найчастіше дослідники використовують модель механічного перерозтягнення легень, яка зустрічається у 30 % вивчених літературних джерел, значно рідше використовують ліпополісахаридну, блеоміцинову модель (приблизно у 15 % досліджень), та лише в 3 % - ураження гідрохлоридною кислотою [283–287].

Загалом, можна виділити 3 основні типи систем моделювання ГУЛ:

1. Моделі, в яких легені уражаються безпосередньо ушкоджуючим фактором. Проведення їх передбачає інтратрахеальне чи інтраназальне введення бактерій чи бактеріального ліпополісахариду відтворюючи ендотоксемію [286], введення хлоридної кислоти чи шлункового соку відтворюючи аспірацію [285], інгаляція чистого кисню [288, 289], вимивання сурфактанту ізотонічним розчином гідрохлориду натрію [290], індукція ішемії/реперфузії перетискаючи ворота легень, механічне перерозтягнення легень [285].

2. Моделі, в яких ураження легень відбувається опосередковано. До цієї категорії відносяться моделі, які базуються на відтворенні сепсису шляхом перев'язки і пункції сліпої кишки, внутрішньовенного введення бактерій чи бактеріального ліпополісахариду, мезентеріальної ішемії/реперфузії, відтворення ліпідного дистрес-синдрому при множинних переломах кісток.

3. Комбінація моделей для кращого відтворення протікання патологічного процесу в організмі людини при ГУЛ. При цьому різні моделі поєднуються між собою [291].

На даний час жодна з існуючих моделей ГУЛ у тварин не може в повній мірі відтворити патологічні зміни при ГУЛ у людей. Навіть, якщо наявні всі три компоненти моделі ГУЛ у тварин, вони зазвичай виражені у

меншій мірі та мають індивідуальні особливості. Так, при аспірації хлоридної кислоти та гіпероксії нейтрофільна відповідь виражена дещо менше, ніж у людини, при ліпополісахаридному ушкодженні відбуваються незначні зміни епітеліального бар'єру, при вимиванні сурфактанту спостерігається мінімальне ушкодження тканин [292]. Найбільш повно патологічну триаду при ГУЛ відображає модель легеневої ішемії, проте у зв'язку з важкістю виконання, її відтворюваність досить низька.

Серед моделей ГУЛ шляхом безпосереднього ураження легень найкращу відтворюваність має аспірація кислоти, проте потрібно точно підібрати її дозу, котра володіє ушкоджуючою дією [283]. При непрямому ураженні легень моделі, що використовуються, теж мають ряд недоліків. Так, при цекальній пункції ушкодження зосереджене в судинному та інтерстиціальному просторі легень, при внутрішньовенному введенні ліпополісахариду легеневе ушкодження не схоже на таке при ГУЛ у людей. Потрібно також зауважити, що моделі прямого ураження легень, на відміну від непрямого, простіші у виконанні, не потребують складних хірургічних втручань, мають добру відтворюваність [293].

Отже, для нашого експериментального дослідження ми вибрали нейтрофіл-залежну модель ГУЛ, яка є легко відтворювана та відображає нейтрофільне запалення, що є важливим у патогенезі ГУЛ.

2.2 Характеристика експериментального дослідження

Експериментальні дослідження виконані на 340 білих безпородних статевозрілих щурах-самцях віком 6-8 місяців, масою від 200 до 220 г, яких утримували в одному приміщенні при постійній температурі 18-22 °С на стандартному режимі віварію [294]. Для проведення експерименту відбирали тварин з урахуванням їх індивідуальної резистентності до гіпоксії. Оцінка стійкості щурів до гострої гіпоксії проводилась за методикою В. Я. Березовського і полягала в індивідуальному випробуванні

лабораторних тварин у барокамері, де створювалося розрідження, що відповідало висоті 12 000 м, швидкість підйому становила 50 м/с. [295]. При появі другого агонального вдиху, тризму, тремору або судом фіксували час з наступною нормалізацією тиску. Розподіл тварин за стійкістю до гіпоксії проводився наступним чином: низькостійкими вважали щурів при появі другого агонального вдиху, тризму, тремору або судом менше 180 с, середньостійкими – від 180 до 420 с, високостійкими – більше 420 с. В експерименті для моделювання ГУЛ використовували середньостійких до гіпоксії щурів.

Залежно від термінів ГУЛ всі тварини були поділені на 5 експериментальних груп (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Розподіл експериментальних тварин, використаних в дослідях

| Група спостережень | К-ть тварин |
|--|-------------|
| I група. Інтактні білі щури | 20 |
| II група. Тварини із гострим ураженням легень через 2 години | 80 |
| III група. Тварини із гострим ураженням легень через 6 годин | 80 |
| IV група. Тварини із гострим ураженням легень через 12 годин | 80 |
| V група. Тварини із гострим ураженням легень через 24 годин | 80 |

Операції на тваринах проводились з дотриманням всіх правил асептики і антисептики. Тваринам ГУЛ моделювали за методикою G. Matute-Bello в авторській модифікації шляхом підбору конкретної дози хлоридної кислоти (HCl) [296, 297]. За 20 хв до початку операції внутрішньочеревно вводили тіопентал натрію (40 мг/кг маси щура). Вентральну сторону шії обробляли хлоргексидином і робили цервікотомію довжиною до 1,0-1,5 см для візуалізації трахеї. Тварин розміщували горизонтально під кутом 45°, інсуліновим шприцом вводили у трахею хлоридну кислоту. Аналіз літературних джерел показав розмаїття

використання концентрації та дози НСІ для розвитку ГУЛ/ГРДС в експериментальних тварин [298-300]. Для вибору оптимальної дози НСІ було проведено пробне експериментальне дослідження з встановленням морфологічних змін легеневої тканини при різному рН НСІ. Встановлено, що оптимальною для моделювання ГРДС є 0,1 N НСІ в дозі 1,0 мл/кг та для ГУЛ НСІ при рН 1,2 в дозі 1,0 мл/кг на вдиху. При цьому вже через 2 години розвиваються характерні морфологічні ознаки ГУЛ та ГРДС, які проявляються розвитком інтерстиційного й альвеолярного набряку, пошкодженням епітелію слизової оболонки бронхів [296, 297]. .

Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин в аналогічній дозі. Через 2, 6, 12 та 24 години тварин виводили з експерименту шляхом введення тіопенталу натрію в дозі 90 мг/кг маси тварини.

Механізм розвитку та прогресування ГУЛ ми розглядали з позиції існування типових специфічних і неспецифічних механізмів порушення. Для того щоб встановити послідовність розвитку патологічних змін при ГУЛ, дослідження було поділене на чотири послідовні етапи (рис. 2.1):



Рис. 2.1 Етапи експериментального дослідження.

Враховуючи велику кількість досліджень тварин розподілили по 6 або по 12 щурів у групі залежно від проведених методів дослідження (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Розподіл тварин залежно від проведених методів дослідження

| Методи дослідження | Кров | | БАЗ | |
|--|---------------|------------------|---------------|------------------|
| | Конт- роль | Експери- мент | Конт- роль | Експери- мент |
| Дослідження рівня лейкоцитів та гранулоцитів | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Оцінка окиснювальної модифікації білків | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Визначення рівня пероксидного окиснення ліпідів (ДК, ТК, МДА) | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Дослідження системи антиоксидного захисту (СОД, каталаза, церулоплазмін, SH-групи, ЗАОА) | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Рівень NO та його метаболітів | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Оцінка рівня ендогенної інтоксикації (МСМ/254, МСМ/280, ЕП) | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Стан гуморальної ланки імунітету (Ig M, Ig G, Ig A, В-лімфоцити, ЦІК) | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Стан клітинної ланки імунітету (Т-лімфоцити, Т-хелпери, Т-супресори) | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Дослідження прозапальних цитокінів (ФНП- α , Іл-1 β , Іл-6, Іл-8) | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Оцінка рівня протизапального Іл-10 | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Дослідження рівня активних форм кисню в нейтрофілах | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Визначення кількості нейтрофілів зі зниженим трансмембранним потенціалом | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Визначення кількості ФНП-Р1 презентуючих клітин | 12 | 48 | 12 | 48 |
| Дослідження рівня каспази-3 | 6 | 24 | 6 | 24 |

Об'єктом дослідження служили кров, бронхоальвеолярний змив та паренхіма легень. Для одержання бронхоальвеолярного змиву тваринам вводили інтратрахеально 2 мл стерильного фізіологічного розчину, який через 1 хв забирали. Дану процедуру повторювали 3 рази [301]. Смертність тварин при моделюванні ГУЛ становила 8,24 %.

Додатково тваринам проводили інтегральну реографію (по 6 тварин у кожній групі) та морфологічне дослідження тканини легень (по 12 тварин у кожній групі).

Основним критерієм правильного моделювання ГУЛ був рівень індексу оксигенації (pO_2/FiO_2). З метою оцінки його ступеня дослідження проводились у п'яти групах тварин. Через 2, 6, 12 і 24 год розвитку досліджуваної патології в умовах тіопентало-натрієвого знеболення (90 мг/кг) у тварин за розробленим методом забирали артеріальну та венозну кров, яка протягом перших 20 хв проходила дослідження на аналізаторі ЭЦ-60 Э (Скверті-Мед, Росія).



Рис. 2.2. Забір венозної крові з правого шлуночка.

Існуючі методики забору крові у щурів (шляхом кардіопункції та інші) не дозволяють отримати достатню її кількість, тому для забору крові була розроблена та використана оригінальна методика, яка полягає в безпосередньому заборі артеріальної крові з лівих відділів серця, шляхом пункції його через діафрагму після проведення лапаротомії та венозної крові безпосередньо з правого шлуночка після проведення торакотомії [302]. Перед забором крові шприц промивався розчином гепарину. Дана методика дозволила забирати 2 мл артеріальної і венозної крові (див. рис. 2.2).

2.3 Визначення показників газового складу крові та рН

Визначали основні показники газового складу артеріальної крові, використовуючи аналізатор кислотно-лужної рівноваги і електролітів крові «ЭЦ-60Э» (Скверті-Мед, Росія): рН, парціальний тиск кисню (pO_2), парціальний тиск вуглекислого газу (pCO_2) в артеріальній крові. На основі даних показників і введених показників гемоглобіну дослідної тварини і вмісту кисню в повітрі (FiO_2) з врахуванням температури дослідної тварини були перераховані відповідні показники: індекс оксигенації pO_2/FiO_2 та альвеолярно-артеріальний градієнт кисню: $AaDO_2 = 150 - (PaCO_2/0,8) - PaO_2$.

2.4 Визначення показників функціонального стану організму

2.4.1 О ц і н к а р і в н я н а б р я к у л е г е н ь. Для вимірювання величини легеневого набряку визначали wet to dry ratio (W/D). Методика полягає у визначенні маси легень відразу ж після експерименту, потім легені сохнуть до сталої ваги при температурі 60 °C протягом 24 години в термостаті, і знову важаться. Вимірюється співвідношення маси легень до висушування і після [303].

2.4.2 Дослідження імунореактивності організму. *Дослідження клітинного і гуморального імунітету* [304].

Метод ґрунтується на взаємодії моноклональних антитіл (МКАт), мічених флюоресцентною міткою, з поверхневими антигенами лімфоцитів. В кожну пробірку вносили 20 мкл антитіл (CD3+/CD4+/CD8+, CD16+, CD19+) і ЕДТА, не торкаючись наконечником стінок пробірки. Зразки перемішували на вортексі та інкубували в темному місці 15-30 хв при кімнатній температурі. Рекомендована кількість лейкоцитів – (3,5-9,4) Г/л. Для лізису еритроцитів в кожну пробірку вносили по 500 мкл лізуючого розчину, струшували на вортексі й інкубували 10-15 хв при кімнатній температурі. Додавали до пробірок по 500 мкл буферного розчину. Зразки аналізували на проточному цитофлюориметрі Epics-XL виробництва Beckman Coulter (США).

Дослідження вмісту імуноглобулінів класів А, М і G та цитокінового статусу в сироватці крові [305, 306].

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). [324].

Для визначення цитокінів в лунки стрипів, підготовлених до аналізу, вносили по 250 мкл промиваючого розчину на 30 хвилин. Потім видаляли рідину з лунок і вносили в лунки по 100 мкл розбавляючого розчину у робочій концентрації і 100 мкл сироватки або БАЗ щурів. Інкубували 120 хв при $t=37$ °С. Видаляли вміст стрипів і 2 рази промивали лунки 250 мкл промиваючого розчину. Потім додавали по 100 мкл кон'югату й інкубували 60 хв при $t=37$ °С. Видаляли вміст стрипів і 3 рази промивали лунки по 250мкл промиваючого розчину, вносили в лунки по 100 мкл субстратного розчину, інкубували у темному місці при кімнатній температурі, після чого вносили по 50 мкл зупиняючого реагенту та вимірювали при 450 нм.

Концентрацію ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8 та ІЛ-10 виражали у пг/мл, вміст сироваткових імуноглобулінів (Ig) А, М, G – у г/л.

Визначення вмісту циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові.

Кількість циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові визначали преципітацією їх розчином поліетиленгліколю-6000 [306, 307].

До 0,3 мл сироватки додавали 0,6 мл 0,1 М боратного буферу (рН = 8,4). Суміш розливали в 2 пробірки по 0,3 мл і додавали до 1-ї пробірки 2,7 мл того ж боратного буферу, а до 2-ї – 2,7 мл розчину поліетиленгліколю-6000 (10 г ПЕГ в 240 мл боратного буферу). Проби інкубували 60 хв за кімнатної температури і фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при 450 нм. Розрахунок кількості ЦК проводили за формулою:

$$\text{ум. од.} = (E_d - E_k) \times 1000, \quad (2.1)$$

де E_d – екстинкція вмісту 2-ої пробірки,

E_k – екстинкція вмісту 1-ої пробірки.

2.4.3 Показники ендогенної інтоксикації.

Визначення рівня молекул середньої маси.

З метою виявлення ендотоксемії у хворих визначали рівень молекул середньої маси (МСМ) у плазмі крові, які вважаються інтегральним показником інтоксикації серед широкого кола метаболітів з токсичною дією [308], за методикою, описаною Габріеляном М.І. та співавт. (1984, 1985), котра базується на властивості 10 % розчину трихлороцтової кислоти осаджувати майже весь вміст МСМ сироватки крові та визначенні фракцій при довжині хвилі 254 та 280 нм. Виміри фракцій проводили на спектрофотометрі СФ-26 в ультрафіолетовому світлі при довжині хвилі 254 і 280 нм.

Визначення еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ).

В основі методу лежить уява про еритроцит як адсорбент, тобто здатність еритроцитарної мембрани поглинати і пропускати забарвлені речовини [309].

У пробірку, що містить 1 мл 3,8 % розчину цитрату натрію, поміщали 4 мл цільної крові. Перемішували і відділяли еритроцити шляхом центрифугування протягом 10 хв при 3000 об/хв. Сироватку видаляли. Переносили 1 мл еритроцитарної маси в пробірку, що містить 3 мл 0,025 % метиленової синьки, приготовленої на фізрозчині. Перемішували та інкубували 10-12 хв при кімнатній температурі. Після цього центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. Надосадову рідину відбирали і фотоколориметрували при 630 нм проти фізіологічного розчину. Кількість поглинутого барвника (в %) вираховували за наступною формулою:

$$A=100-Cx100/B, \quad (2.2)$$

де А – кількість поглинутого барвника, %,

В – оптична щільність вихідного розчину (метиленова синька) в од. екстинкції,

С – оптична щільність розчину барвника після інкубації з еритроцитами, од.екстинкції,

100 – відсоток щільності мембрани в нормі.

2.4.4 Показники вільнорадикального окиснення та антиоксидного захисту.

Дослідження окиснювальної модифікації білків у плазмі крові.

Метод оцінки окисної модифікації білків заснований на взаємодії окислених амінокислотних залишків з 2,4-дінітрофенілгідразином (2,4-ДНФГ) з утворенням 2,4-дінітрофеніл-гідразонів [310, 311].

Для реєстрації спонтанної окисної модифікації білків до 0,05-0,1 мл плазми додавали 100 мМ фосфатного буферу (рН 7,4) до кінцевого об'єму проби 1 мл, інкубували при 37 °С протягом 15 хвилин. У контрольну пробу додавали 4 мл 2,5 М НС1, в дослідну – 4 мл 10 мМ 2,4-ДНФГ в 2,5 М НС1. Інкубацію контрольної та дослідної проб здійснювали при кімнатній температурі протягом години в темряві, перемішуючи кожні 15 хвилин. Потім в кожную пробу додавали по 5 мл холодної 20% трихлороцтової

кислоти для осадження білків і поміщали на холод на 15 хвилин. Після цього проби центрифугували 15 хвилин при 3000 об / хв, супернатант видаляли, а осад додатково промивали 4 мл 10% трихлороцтової кислоти і центрифугували. Для екстракції ліпідів і видалення 2,4-ДНФГ, який не прореагував з карбонільними групами окислених білків, осад механічно руйнували, промивали 3 рази 4 мл суміші етанол: етилацетат (1:1). Після цього осад білка розчиняли в 2 мл 8 М сечовини і залишали на 1 годину при 37 °С постійно перемішуючи. Оптичну щільність дослідної проби вимірювали при 370 нм відносно контрольної проби на спектрофотометрі СФ-16. Оскільки до 10-15% білка втрачається на всіх етапах промивання, для визначення фактичного рівня карбонільних груп значення перераховували в нмоль / мг білка. Вміст білка визначали біуретовим методом [310].

Вміст фенілгідразонів розраховували використовуючи коефіцієнт молярної екстинкції ($2,1 \times 10^4 \times M^{-1} \times cm^{-1}$) за формулою:

$$K = 10^3 E / 21 \times C, \quad (2.3)$$

де K – вміст фенілгідразонів в ммоль/г,

C – вміст білка в 0,2 мл плазми крові.

Визначення концентрації дієнових кон'югатів.

Концентрацію дієнових кон'югатів (ДК) визначали за методом, який ґрунтується на тому, що екстраговані гептан-ізопропіловою сумішшю гідроперекиси мають відповідний максимум поглинання: ДК при довжині хвилі 232 нм [312, 313].

До 0,2 мл сироватки або 0,4 мл 10 % гомогенату додавали 4 мл суміші гептан-ізопропанолу (1:1) і струшували 15 хв на лабораторному струшувачі. Потім у пробірки додавали по 1 мл розчину хлоридної кислоти (рН=2,0) і 2 мл гептану, інтенсивно струшували і після відстоювання та розшарування суміші (через 30 хв) відбирали гептановий шар та вимірювали його оптичну щільність на спектрофотометрі СФ-46 при $\lambda = 232$ нм. Як контроль

використовували пробу, що містила 0,2 мл дистильованої води замість досліджуваного матеріалу. Розрахунок вмісту ДК проводили у відносних одиницях за формулою:

$$C = 10 \cdot E \cdot V_1/V_2 \text{ (для сироватки), або } C = E \cdot V_1/V_2 \text{ (для легень),} \quad (2.4)$$

де E – оптична щільність гептанового шару проби,

V_1 – кінцевий об'єм гептанового екстракту (4 мл),

V_2 – об'єм досліджуваного матеріалу (2 мл).

Вміст дієнових кон'югатів виражали в ммоль/л у сироватці крові та ммоль/кг у гомогенаті легень.

Визначення концентрації трієнових кон'югатів.

Концентрацію трієнових кон'югатів (ТК) визначали за методом, який ґрунтується на тому, що екстраговані гептан-ізопропіловою сумішшю гідроперекиси мають відповідний максимум поглинання: ТК при довжині хвилі 275 нм [312, 313].

До 0,2 мл сироватки або 0,4 мл 10 % гомогенату додавали 4 мл суміші гептан-ізопропанолу (1:1) і струшували 15 хв на лабораторному струшувачі. Потім у пробірки додавали по 1 мл розчину гідрохлоридної кислоти (рН=2,0) і 2 мл гептану, інтенсивно струшували і після відстоювання та розшарування суміші (через 30 хв) відбирали гептановий шар та вимірювали його оптичну щільність на спектрофотометрі СФ-46 при $X = 275$ нм. Як контроль використовували пробу, яка містила 0,2 мл дистильованої води замість досліджуваного матеріалу. Розрахунок вмісту ТК проводили у відносних одиницях за формулою:

$$C = 10 \cdot E \cdot V_1/V_2 \text{ (для сироватки) або } C = E \cdot V_1/V_2 \text{ (для легень),} \quad (2.5)$$

де E – оптична щільність гептанового шару проби,

V_1 – кінцевий об'єм гептанового екстракту (4 мл),

V_2 – об'єм досліджуваного матеріалу (2 мл).

Вміст трієнових кон'югатів виражали в ммоль/л у сироватці крові та ммоль/кг у гомогенаті легень.

Визначення концентрації ТБК-активних продуктів [314].

Принцип методу: при високій температурі в кислому середовищі речовини реагують з тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений комплекс з максимумом поглинання при 535 нм.

У центрифужні пробірки наливали по 0,5 мл сироватки крові чи бронхоальвеолярного змиву або 1 мл 10 % гомогенату та додавали 2 мл 30 % розчину трихлороцтової кислоти, 0,1 мл 5М НС1 і 2 мл тіобарбітурової кислоти. Пробірки поміщали в киплячу водяну баню на 15 хв. Потім пробірки охолоджували, та центрифугували при 3000 об/хв 10 хвилин. Надосадову рідину фотометрували спектрофотометрі на СФ-46 при 535 нм.

Кількість ТБК-активних продуктів ПОЛ розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції забарвленого комплексу і виражали в ммоль/л сироватки крові чи БАЗ або ммоль/кг тканини легень.

Визначення супероксиддисмутази (СОД).

Принцип методу ґрунтується на здатності ферменту інгібувати відновлення нітротетразолію синього [315].

Для дослідження брали 1 мл крові або 10 % гомогенату легень, який готували на фосфатному буфері (рН=7,4). Проводили попередню обробку досліджуваного матеріалу хлороформ-спиртовою сумішшю і KH_2PO_4 з наступним центрифугуванням при 12000 об/хв протягом 15 хв при 4 °С. До 0,2 мл супернатанту додавали 1,3 мл пірофосфатного буферу (рН=8,3), молярна концентрація якого 0,1 моль/л, 1 мл розчину нітротетразолію синього, 0,3 мл розчину феназинметасульфату і 2 мл розчину НАДН₂, молярна концентрація якого 0,2 ммоль/л. Проби 10 хв витримували в темноті й фотометрували (СФ-46, 540 нм) в 1 см кюветі проти проб, до яких не додавали НАДН₂. Контролем служив фосфатний буфер. Активність ферменту розраховували за формулою:

$$A_{\text{СОД}} = T \cdot (100\% - T), \quad (2.6)$$

де $A_{\text{СОД}}$ – активність супероксиддисмутази,

T – відсоток інгібування ($T=(E_k-E_d)\cdot 100/E_k$, де E_k – екстинкція контрольної проби; E_d – екстинкція дослідної проби).

Кількість ферменту, яка здатна інгібувати відновлення нітротетразолію синього на 50 %, приймали за 1 ум.од. активності.

Визначення каталазної активності [316].

Принцип ґрунтується на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс, інтенсивність якого обернено пропорційна активності каталази у досліджуваному субстраті.

Досліджували сироватку крові і тканину легень, з якої на холоді готували 10 % гомогенат на тріс-буфері (рН = 7,8), молярна концентрація якого 0,05 моль/л. Реакцію запускали додаванням 0,1 мл плазми або гомогенату до 2 мл 0,03 % розчину пероксиду водню. Паралельно готували холосту пробу, в яку замість досліджуваного матеріалу вносили 0,1 мл дистильованої води. Через 10 хв реакцію зупиняли додаванням 1 мл 4 % молібдату амонію. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при 410 нм проти контрольної проби, в яку замість пероксиду водню додавали 2 мл води. Активність каталази виражали в мілікаталах і розраховували за формулою:

$$A = (E_x - E_d) \cdot V \cdot t \cdot k, \quad (2.7)$$

де A – активність каталази;

E_x і E_d – екстинкції холостої і дослідної проб;

V – об'єм досліджуваної проби, мл;

t ; – час інкубації, с;

k – коефіцієнт молярної екстинкції пероксиду водню.

Підраховували індекс Φ за формулою:

$$\Phi = \text{СОД} \cdot \text{КТ/ТБК-активні продукти}, \quad (2.8)$$

де СОД – супероксиддисмутаза,

КТ – каталаза.

Визначення концентрації церулоплазміну [310, 317].

Рівень церулоплазміну (ЦП) визначали за методом, описаним у роботі. Принцип методу: окиснення п-фенілендіаміну в присутності церулоплазміну призводить до утворення забарвлених продуктів. Кількість церулоплазміну пропорційна інтенсивності забарвлення.

Досліджували сироватку крові без слідів гемолізу. В пробірки вносили по 0,1 мл сироватки. В контрольну пробірку додавали 1 мл 0,5 % розчину гідроксиламіну солянокислого з метою інактивації ферменту. У всі пробірки додавали по 8 мл розчину ацетатного буферу (pH=5,5), молярна концентрація якого 0,4 моль/л і по 1 мл 1 % п-фенілендіаміну, потім витримували в термостаті при $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 год. Далі у кожну пробірку, крім контролю, додавали по 1 мл гідроксиламіну солянокислого. Проби витримували 30 хв при $t = 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ і потім визначали їх оптичну щільність проти контролю на спектрофотометрі СФ-46 при 530 нм. Розрахунок проводили за формулою:

$$C = E - 87,5, \quad (2.9)$$

де C – концентрація церулоплазміну в мг/л плазми;

E – екстинкція проби;

87,5 – коефіцієнт перерахунку.

Визначення концентрації відновленого глутатіону (SH-груп) [318].

Принцип методу полягає у взаємодії 5,5'-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з SH-групами досліджуваного субстрату. При цьому утворюється тіонітрофенільний аніон, кількість якого прямо пропорційна вмісту SH-груп. Їх концентрацію виражали в мілімолях на кілограм тканини легень (мкмоль/кг).

До 0,2 мл гомогенату легень (1:4) додавали 1,6 мл 3 % H_2O_2 і 0,2 мл 25 % сульфосаліцилової кислоти. Центрифугували 15 хв при 3000 об/хв, потім до 0,5 мл центрифугату додавали 2,5 мл 0,2 моль/л тріс-буферу (pH=8,4) і 0,05 мл 0,04 % розчину реактиву Елмана. В контрольну пробірку замість досліджуваного матеріалу вносили 0,2 мл води. Через 10 хв проби фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при 412 нм проти контролю.

Концентрацію відновленого глутатіону розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції для тіонітрофенильного аніону, концентрацію виражали в мілімолях на кілограм тканини легень (млмоль/кг).

Визначення загальної антиоксидної активності плазми крові спектрофотометричним методом.

Антиокислювальну активність плазми крові визначали за її здатністю гальмувати утворення продуктів перекисного окислення в гомогенаті мозку щурів [319].

Очищену від крові тканину мозку гомогенізували в 40 мМ льодяному фосфатно-соляному буфері, рН = 7,4 (1 : 4). Гомогенат центрифугували при 1000 об/хв протягом 15 хв. Супернатант зберігали при -20 °С. Перед дослідом супернатант розморожували за кімнатної температури і розбавляли трьома об'ємами фосфатно-соляного буферу. В пробірки вносили по 5 мл розведеного гомогенату, 50 мкл досліджуваної плазми або буферного розчину (контроль). Проби інкубували при 37 °С протягом 1 год. Відбирали по 4 мл зразка, додавали 2 мл 28 % трихлороцтової кислоти і центрифугували 15 хв при 3000 об/хв. Відбирали 4 мл супернатанту, додавали 1 мл 1 % ТБК і кип'ятили 15 хв. Проби фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при 532 нм. Паралельно визначали вміст продуктів перекисного окислення у пробах без інкубації (0 час). Загальну антиоксидну активність плазми виражали в % і визначали за формулою:

$$\text{АОА} = (1 - (E_{\text{досл.}} - E_0) / (E_{\text{контр.}} - E_{0 \text{ контр.}})) \times 100, \quad (2.10)$$

де $E_{\text{досл.}}$ і $E_{\text{контр.}}$ – екстинкції інкубованих дослідної і контрольної проб;

E_0 і $E_{0 \text{ контр.}}$ – екстинкції дослідної і контрольної проб, які не інкубувалися.

Визначення метаболітів оксиду азоту [320].

Сумарний вміст метаболітів оксиду азоту в плазмі крові та легеневих експіратах – нітрат-аніону (NO_3^-) та нітрит-аніону (NO_2^-), визначали методом фотометрії, використовуючи реактив Грейса (розчин сульфаніламід у 30 % крижаній оцтовій кислоті), який використовували в якості кольорового реагенту, що

дає малинове забарвлення за наявності метаболітів оксиду азоту в рідині.

Інтегральна реографія.

Провідним патогенетичним механізмом гострого ураження легень є акумуляція нейтрофілів у легенях, що обумовлює як локальне, так і системне пошкодження тканин, і вплив медіаторів запалення на стан системної гемодинаміки, зокрема величину ударного викиду, тонус судин, характер артеріального кровонаповнення і венозного відпливу [321]. Ці дані експериментально можна одержати на основі інтегральної реографії (ІР) – неінвазивного методу, який достатньо чітко характеризує стан системної гемодинаміки [322, 323].

На отриманих записах визначали загальновизнані показники [322] (рис. 2.3).

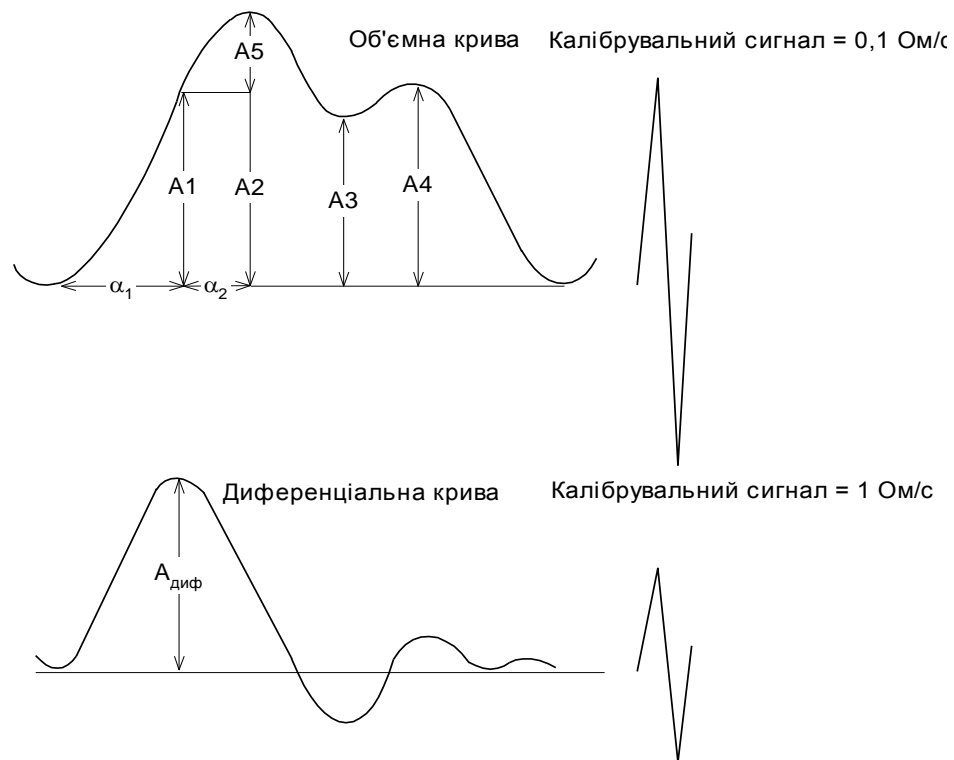


Рис. 2.3. Схема об'ємної і диференціальної кривих реографії.

$A_{\text{диф}}$ – максимальна амплітуда диференціальної кривої;

α_1 – час швидкого наповнення, с;

α_2 – час повільного наповнення, с;

A_1 – амплітуда швидкого наповнення, Ом;

A_2 – амплітуда систолічної хвилі (реографічний систолічний індекс, РСІ), Ом;

A_3 – амплітуда на рівні інцизури реогепатограми, Ом;

A_4 – амплітуда на рівні дикротичного зубця, Ом;

A_5 – амплітуда повільного наповнення, Ом;

$V_{\text{макс}}$ – максимальна швидкість швидкого наповнення, Ом·с⁻¹;

$$V_{\text{макс}} = \frac{A_1}{\alpha_1};$$

$V_{\text{сер}}$ – середня швидкість повільного наповнення, Ом·с⁻¹;

$$V_{\text{сер}} = \frac{A_5}{\alpha_2};$$

ДКІ – дикротичний індекс, %:

$$\text{ДКІ} = \frac{A_3 \cdot 100}{A_2};$$

РДІ – реографічний діастолічний індекс, %:

$$\text{РДІ} = \frac{A_4 \cdot 100}{A_2}.$$

Перераховані показники встановлювали не менше як у трьох кардіоциклах. Використовували їх середні значення.

2.5 Методи дослідження ініціації та реалізації апоптозу гранулоцитів

Як відомо, основою синдрому ГУЛ є неспецифічна запальна реакція на рівні мікросудин легень з порушенням легеневого гомеостазу, що ініціюється, згідно із сучасними уявленнями, активацією нейтрофільних гранулоцитів [325].

Підрахунок кількості лейкоцитів та нейтрофільних гранулоцитів у крові та бронхоальвеолярному змиві.

Загальну кількість лейкоцитів у крові та БАЗ підраховували загальноприйнятим методом у камері Горяєва. Попередньо отриманий бронхоальвеолярний змив центрифугували протягом 10 хв. при 3000 об. Супернатант збирали для наступних досліджень, а отриманий осад використовували для підрахунку лейкоцитів та лейкоцитарної формули. НГ рахували в мазках, які фарбували за Папенгеймом.

Виділення нейтрофільних гранулоцитів.

Виділення нейтрофілів проводили методом градієнтного центрифугування [326]. Кров та БАЗ 4-5 мл забирали в стерильні пробірки з 3 % розчином ЕДТА (співвідношення 1 частина ЕДТА і 20 частин крові). З метою осадження еритроцитів й отримання лейкоцитарної суспензії в пробірку додавали 10 % розчин желатину в співвідношенні 10:1 та відстоювали 30 хв при температурі 37 °С. Виділену лейкоцитарну завесь одноразово відмивали 0,85% розчином хлориду натрію, центрифугуючи 10 хв при 1500 об/хв. Нейтрофіли виділяють на подвійному градієнті щільності стерильних розчинів фікол-урографіну. Щільність верхнього шару градієнта складає 1,075-1,077, а нижнього – 1,093-1,095. Об'єм кожного шару градієнта дорівнює 1,5 мл. Через 30 хвилин після центрифугування при 1500 об/хв на межі між плазмою і верхнім шаром градієнта утворюється кільце, що складається в основному з моноклеарних клітин (лімфоцити – 45-50 %, моноцити – 15–20 %, гранулоцити – 10-15 %). В інтерфазі між двома шарами градієнтів щільності розташовується шар гранулоцитів з чистотою 96-98 %, 2-4 % складають моноклеари. Клітини акуратно збирали, переносили у стерильні центрифужні пробірки, тричі відмивали стерильним 0,85 % розчином хлориду натрію і розводили цим же розчином до концентрації 5×10^6 клітин/мл.

Для виділення нейтрофілів з гомогенату легень промиті у фосфатно-сольовому буфері легені гомогенізували в магнітному подрібнювачі тканин «SilentCrusher S», гомогенат центрифугували 20 хв при 8000 об/хв. З надосадової рідини виділяли фракції лейкоцитів на градієнті щільності фікол-урографін за вище вказаними методами.

Суспензію ізольованих нейтрофілів змішували з рівним об'ємом 0,4 % розчину трипанового синього і через 5 хв розглядали в світловий мікроскоп під великим збільшенням. Здорові життєздатні нейтрофіли мають круглу форму, характерний блідо-фіолетовий колір, чітко окреслену плазматичну мембрану. Пошкоджені клітини забарвлюються вітальним барвником і

мають темно-синій колір і неправильну форму. Працювали з клітинними суспензіями, ступінь забарвленості клітин в яких не перевищував 25 % [326].

Оцінка продукції активних форм кисню гранулоцитами методом проточної лазерної цитофлуориметрії.

Для вимірювання рівня активних форм кисню (АФК) у нейтрофілах крові та бронхоальвеолярного змиву використовували дихлорфлуоресцеїну диацетат (ДХФ-ДА) («Sigma Aldrich», USA), який є барвником із заблокованою флуоресценцією [327]. Після пасивного проникнення в клітину і відщеплення ацетатної групи під дією естераз ДХФ-ДА переходить у полярну сполуку, яка не здатна до дифузії з клітини. У результаті взаємодії з перекисом водню та іншими вільними радикалами ДХФ-ДА стає флуоресціюючою сполукою. У чисту полістеринову пробірку поміщали 90 мкл суспензії мононуклеарних лейкоцитів і 10 мкл робочого розчину ДХФ-ДА. Клітини ресуспензували й інкубували тривалістю 20 хв при 37 °С. Потім центрифугували при 1000 об/хв протягом 10 хв, зливали надосад і додавали 400 мкл фосфатно-сольового буферу. Проби поміщали на лід, рівень продукції АФК аналізували за інтенсивністю світіння барвника (FL-1 канал) на проточному цитофлуориметрі Epics XL («Beckman Coulter», США). Значення дослідженого параметру виражали у відсотках.

Оцінка апоптозу нейтрофільних гранулоцитів з використанням методу проточної лазерної цитофлуориметрії.

Для оцінки апоптозу нейтрофілів крові, екстракту легень та бронхоальвеолярного лаважу використовували ФІТЦ-мічений анексин V та пропідію йодид (PI) з набору реагентів «ANNEXIN V FITC» («Beckman Coulter», США) [328]. До 200 мкл суспензії лейкоцитів ($2,0 \cdot 10^6$ клітин в 1 мл) додавали 400 мкл охолодженого фосфатно-сольового буферу («Helikon», США), центрифугували протягом 5 хв при 1500 об/хв. Зливали надосад і ресуспензували клітини в 100 мкл Ca^{2+} -зв'язуючого буферу. Після додавання 1 мкл ANNEXIN V FITC і та PI перемішували на центрифусі вортекс, далі

проби поміщали на лід й інкубували 10 хв в темряві. Потім додавали 400 мкл охолодженого буферу і перемішували.

Аналіз проб проводили на проточному цитометрі Epics XL («Beckman Coulter», США) з аргонним лазером, визначаючи декілька параметрів: мале кутове світлорозсіювання (FSC), що характеризує розмір клітини, бічне світлорозсіювання (SSC), що характеризує цитоплазматичні, а також мембранні особливості клітини, і показник зеленої флуоресценції (флуоресцеїн ізотіоціанат – ФІТЦ – 530 нм). Досліджувану популяцію клітин гейтували в координатах FSC (вісь абсцис) і SSC (вісь ординат), потім аналізували наявність флуоресценції в координатах на основі Dot Plot (рис. 2.4). Використовували автоматичне програмне забезпечення і методи збору та аналізу даних з високою роздільною здатністю (1024 канали). Отримані результати представляли у відсотках (співвідношення числа анексин-позитивних клітин до загальної кількості фракції лейкоцитів).

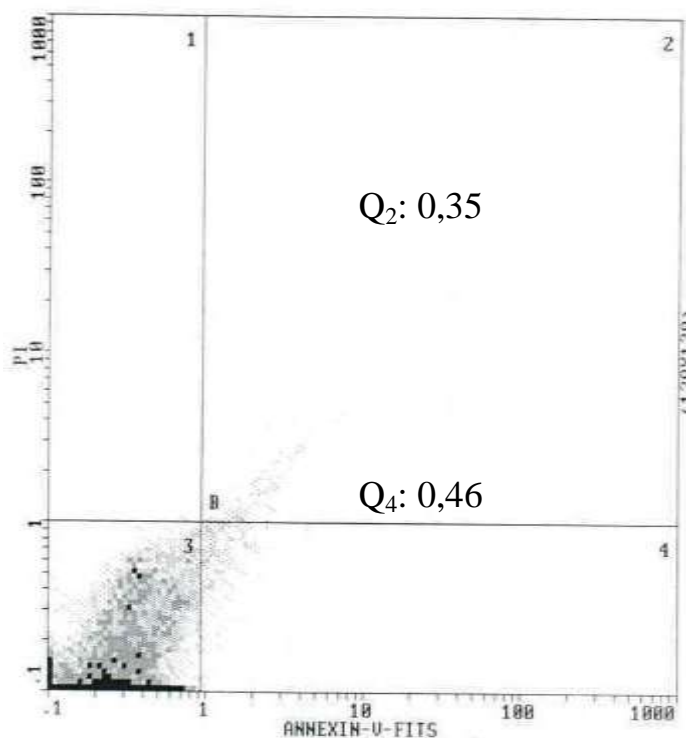


Рис. 2.4. Розподіл апоптичних і життєздатних клітин (Gate - neutrophils) в режимі DotPlot (двопараметрична гістограма). По осі абсцис – інтенсивність флуоресценції анексину V – FITC. По осі ординат – інтенсивність флуоресценції PI. Контроль.

Дискримінаційний аналіз типу клітинної смерті включав: 2-ий квадрант – нейтрофіли, позитивні за PI і анексином V–FITC – пізня стадія апоптозу або некроз; 3-ій квадрант – нейтрофіли, негативні за PI і анексином V–FITC – життєздатні клітини; 4-ий квадрант – нейтрофіли, позитивні за анексином V–FITC і негативні за PI – рання стадія апоптозу.

Оцінка зміни мітохондріального трансмембранного потенціалу нейтрофілів методом проточної цитофлюориметрії.

У нашому дослідженні для визначення кількості нейтрофільних гранулоцитів зі зниженим рівнем потенціалу мітохондріальних мембран ($\Delta\psi$) використовували набір «MitoScreen» («BD Pharmingen», США). В основі методу лежить здатність флюорохрому JC-1 (5,5', 6,6'-тетрахлора-1,1', 3,3'-тетраетилбензimidазол карбоціаніну йодид) проникати через мітохондріальну мембрану клітини, формуючи JC-1-агрегати. Останні мають здатність до червоного спектрального світіння ($\lambda=590$ нм), що реєструється на FL-2 каналі проточного цитометра. Деполяризація мітохондріальної мембрани при запуску програми апоптозу перешкоджає накопиченню даних агрегатів всередині мітохондрій. JC-1 знаходиться в цитоплазмі у вигляді мономерів, які характеризуються світінням у зеленій області спектру ($\lambda=525$ нм), що вимірюється на FL-1 каналі (рис. 2.5) [329].

Згідно з інструкцією фірми-виробника готували розчин JC-1, додавали 0,5 мл до 1 мл суспензії нейтрофілів (10^6 клітин), осаджених центрифугуванням протягом 5 хв при 1000 об/хв. Далі клітини ресуспензували й інкубували 10-15 хв при 37 °C, після чого двічі відмивали буфером. Отримані зразки аналізували на проточному цитометрі Epics XL («Beckman Coulter», США), визначали процентний вміст гранулоцитів з нормальним значенням $\Delta\psi$, що характеризуються як FL-2, так і FL-1-світінням, і відсоток клітин із зниженим значенням $\Delta\psi$, що володіють здатністю до FL-1 світіння. Результати виражали у відсотках

(співвідношення числа нейтрофілів зі зниженим мітохондріальним трансмембранним потенціалом і загального числа клітин).

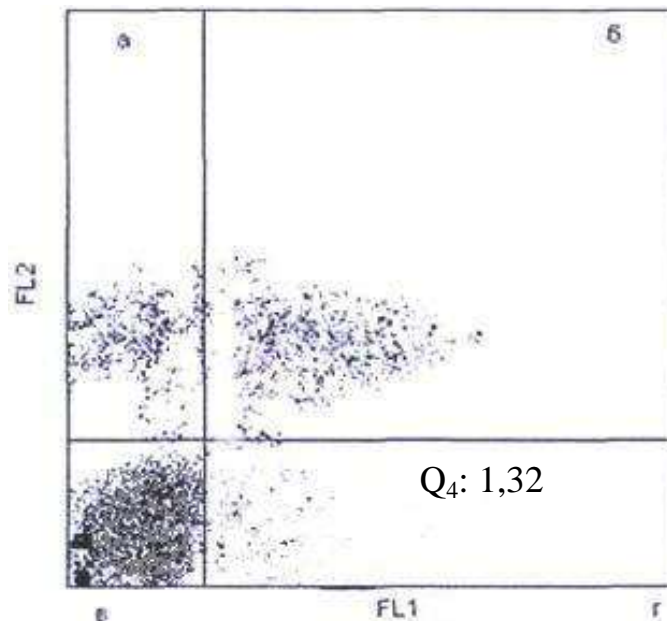


Рис. 2.5. Розподіл нейтрофільних гранулоцитів з різним потенціалом мітохондріальних мембран (двопараметрична гистограма). По осі абсцис – інтенсивність зеленої флюоресценції. По осі ординат – інтенсивність оранжевої флюоресценції. Контроль.

Оцінка кількості ФНП-R1 позитивних нейтрофільних гранулоцитів методом проточної цитофлюориметрії.

Кількість нейтрофілів крові та БАЗ, що несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП типу 1 (ФНП-R1), оцінювали методом проточної лазерної цитометрії на проточному цитометрі Epics XL ("Beckman Coulter", США) з використанням мічених моноклональних антитіл до ФНП-R1 (CD120a) («Nucult biotech», Нідерланди) [330]. Після виділення клітин, відповідно до інструкції фірми-виробника, їх відмивали у фосфатному буфері при рН 7,2 і фарбували стандартними моноклональними антитілами в об'ємі 10 мкл протягом 30 хвилин. Аналіз проводили на основі визначення малого кутового світлорозсіювання (FSC), що характеризує розмір клітини, і бокового світлорозсіювання (SSC), що вказує на цитоплазматичні і мембранні особливості клітини. Після гейтування визначали кількість

гранулоцитів, що характеризуються зеленою флюоресценцією FITC на одномірній гістограмі на Fl-1 каналі.

Визначення рівня активності каспаз.

Для визначення каспази в супернатанті гомогенату легень та лейкоцитарно-лімфоцитарній фракції крові до 0,7 мл досліджуваної рідини додавали 0,25 мл буферу та 50 мкл 2 мМ ДЕВД-n-НА та інкубували протягом 2 год. при 37 С, визначали інтенсивність світлопоглинання при 405 нм, яке прямо пропорційне продукту гідролізу ацетил-Асп-Глу-Вал-Асп n–нітроаніліду каспазою – 3 – n–нітроаніліну [331].

2.6 Морфологічне дослідження тканини легень

Фрагменти легеневої тканини забирали із прикореневих ділянок та каудальних, краніальних і латеральних відносно кореня сегментів. Гістологічні препарати виготовляли згідно загальноприйнятих методик та забарвлювали гематоксиліном і еозином [332]. При здійсненні морфометрії використовувалася стандартизована комп'ютерна програма для аналізу зображень ImageJ 1.32 (National Institutes of Health, США). Визначали наступні показники: ширина міжальвеолярної перегородки (ШМП), об'ємна частка пневматизованого простору (ОЧПП), відносна товщина стінки дрібних бронхів (ВТСБ), відносна товщина судинної стінки дрібних артерій (ВТСС). Відносна товщина стінок бронхів і судин розраховувалася порівняно з їх зовнішнім діаметром [333].

Забір та вирізка матеріалу для електронно-мікроскопічного дослідження здійснювались у тварин у найкоротший термін через 2, 6, 12 та 24 години після ураження.

Для електронномікроскопічних досліджень забирали маленькі шматочки респіраторного відділу легень, з крайових часток. матеріал фіксували у 2,5 % розчині глутаральдегіду, постфіксували 1 % розчином тетраокису осмію на фосфатному буфері, зневоднювали в спиртах і ацетоні та

заливали в суміш аралдиту з епоксидними смолами [334]. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікросомі LKB-3, контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю за методом Рейнольдса і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125 К.

2.7 Статистичні 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 Стюдента [335], в інших випадках – за допомогою U-критерію Мана-Уїтні. Аналіз кореляційних зв'язків отриманих результатів проводили з використанням статистики Спірмена.

Основні положення і висновки, викладені в цьому розділі опубліковані в наукових працях [302, 450].

РОЗДІЛ 3

ПОРУШЕННЯ ГАЗОВОГО СКЛАДУ КРОВІ, ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ, НІТРОКСИДЕРГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ТА СИСТЕМИ АНТИОКСИДНОГО ЗАХИСТУ В ДИНАМІЦІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ ЛЕГЕНЬ ХЛОРИДНОЮ КИСЛОТОЮ

3.1 Зміни газового складу крові та рН за умови гострого ураження легень

Зміни газового складу крові відіграють важливу роль у HCl-індукованому ГУЛ. Такі істотні показники крові, як рН, рСО₂, рО₂ дають уявлення про стан організму, процеси газообміну в легенях, достатність чи дефіцит легеневої перфузії та вентиляції, відповідності чи дисбаланс процесів утилізації кисню у тканинах [336, 337].

У відповідь на патогенний чинник, зокрема хлоридну кислоту, імунна реакція, яка проявляється вивільненням протеаз, оксидантів, лейкотрієнів і прозапальних цитокінів, зумовлює пошкодження легеневого ендотелію, що веде до набряку легень, та ураження альвеолярного епітелію, в результаті чого знижується продукція сурфактанту і втрачається нормальний транспорт рідини, що ще більше поглиблює набряк [338, 339]. Акумуляція рідини, багатой білками в альвеолах є чинником інактивації сурфактанту, тим самим погіршуючи функцію легень [340].

Для оцінки рівня набряку легень використовували співвідношення W/D, яке було достовірно ($p < 0,01$) вищим у 1,6 раза через 2 години після інтратрахеального введення тваринам хлоридної кислоти ($6,70 \pm 0,49$) порівняно з контролем ($4,22 \pm 0,24$). Потрібно відмітити, що даний індекс W/D продовжував зростати і у 3 дослідній групі становив ($9,34 \pm 0,28$), що на 39,4 % вище даних попередньої групи ($p < 0,01$). Перша фаза HCl-

індукованого ГУЛ, як свідчать дані літератури [341], може виникати внаслідок фізико-хімічних процесів або капсаїцин-чутливих аферентних нервів. Тахікініни вивільняються з чутливих нервових волокон у легенях після дії капсаїцину і є основними у розвитку набряку слизової оболонки дихальних шляхів. У наступних 4-ій і 5-ій групах дане співвідношення практично не відрізнялось від показників 3-ої групи, хоча й було вірогідно вищими контролю ($p < 0,01$). Загалом, відмічалось поступове наростання набряку легень протягом 12 год експерименту і зберігалось наступні 12 год.

В результаті цього погіршувався газообмін у легенях, що вело до зсуву рН артеріальної крові у кислу сторону в перші 6 годин дослідження: контроль – $(7,38 \pm 0,01)$, через 2 год після введення НСІ – $(7,28 \pm 0,01)$, ($p < 0,01$), через 6 год експерименту – $(7,23 \pm 0,01)$, ($p < 0,01$), (рис. 3.1). Якщо у контролі кислотність артеріальної крові була достовірно вищою, ніж венозної, то на тлі ГУЛ через 6 год цих відмінностей не спостерігалось (рис. 3.6).

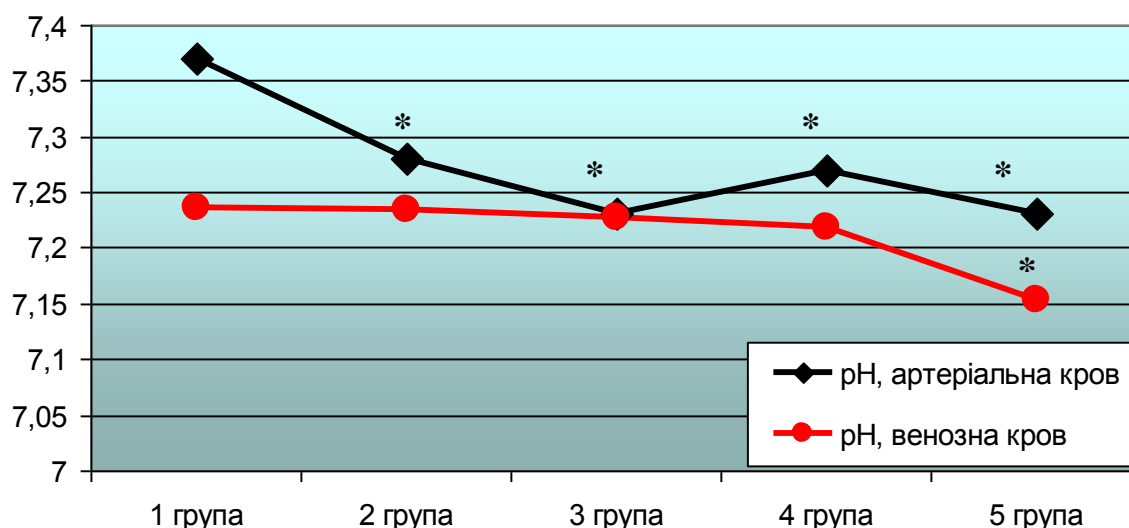


Рис. 3.1. Зміни рН крові у динаміці гострого ураження легень.

Примітка: * – достовірність відмінностей показників порівняно з контролем ($p < 0,01$).

Потрібно зауважити, що через 12 год за цих умов рівень рН дещо підвищився і становив ($7,27 \pm 0,02$), що було достовірно вищим отриманих результатів через 6 год ($p < 0,05$) та практично не відрізнялось від даних через 2 год дослідю. Проте у 5-ій дослідній групі рН знову знижувалось порівняно з 4-ою групою ($p < 0,05$) як в артеріальній, так і венозній крові ($p < 0,05$) (рис. 3.1).

Напруження CO_2 зростало на 9,8 % через 2 год порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$) та на 10,9 % через 6 год експерименту порівняно з отриманими даними через 2 год ($p < 0,01$) (рис. 3.2).

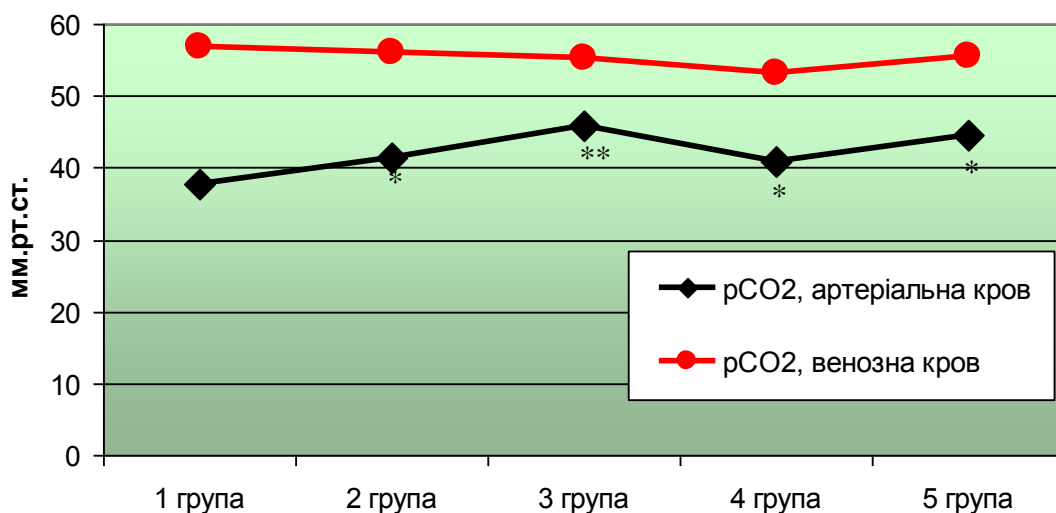


Рис. 3.2. Зміни напруження тиску вуглекислоти артеріальної крові у динаміці гострого ураження легень.

Примітка: * – достовірність відмінностей показників порівняно з контролем (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$).

Ознаки гіперкапнії зменшувалися на 12 год дослідю, при цьому показник не відрізнявся від даних 2-ої групи та контролю, проте в 5-ій дослідній групі вони знову наростали і практично відповідали результатам 3-ої групи. Водночас у венозній крові уражених тварин цей показник суттєво не відрізнявся від аналогічного в контролі впродовж часу спостереження (див. рис. 3.2).

На ранній стадії ГУЛ порушення оксигенації пов'язане з аспірацією гідрохлоридної кислоти. Легеневий набряк і бронхообструкція можуть бути факторами, що зумовлюють зниження індексу оксигенації (pO_2/FiO_2). Так, pO_2 та pO_2/FiO_2 через 2 год зменшились на 47,3 % порівняно з контрольною групою ($p<0,01$) та на 16,2 % через 6 год експерименту порівняно з отриманими результатами через 2 год ($p<0,01$) (рис. 3.3, 3.4).

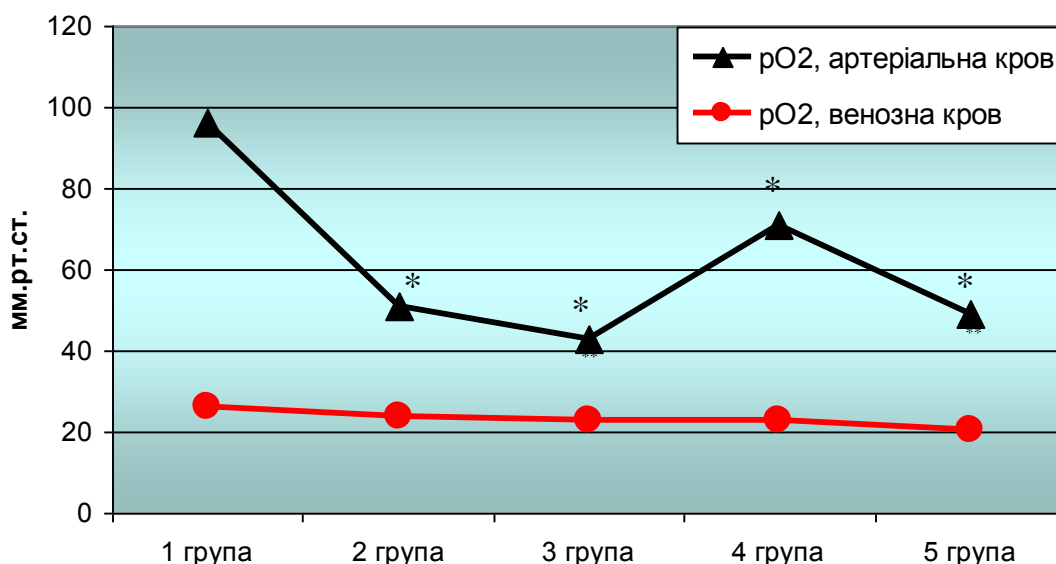


Рис. 3.3. Зміни напруження кисню артеріальної і венозної крові у динаміці гострого ураження легень

Примітка: * – достовірність відмінностей показників порівняно з контролем ($p<0,01$).

Через 12 годин досліджуваної відмічалось покращення оксигенації, що проявлялось зростанням pO_2 та pO_2/FiO_2 порівняно з 3-ю експериментальною групою ($p<0,01$), хоча рівні цих показників не поверталися до норми. Проте у 5-ій дослідній групі спостерігалось зниження ($p<0,001$) досліджуваних показників стосовно попередньої групи, що свідчить про наростання респіраторного ацидозу (рис. 3.3, 3.4). Водночас у венозній крові уражених тварин цей показник мав тенденцію до зниження впродовж перших 12-и год із меншим pO_2 через добу після ГУЛ проти аналогічного в контролі ($p<0,05$).

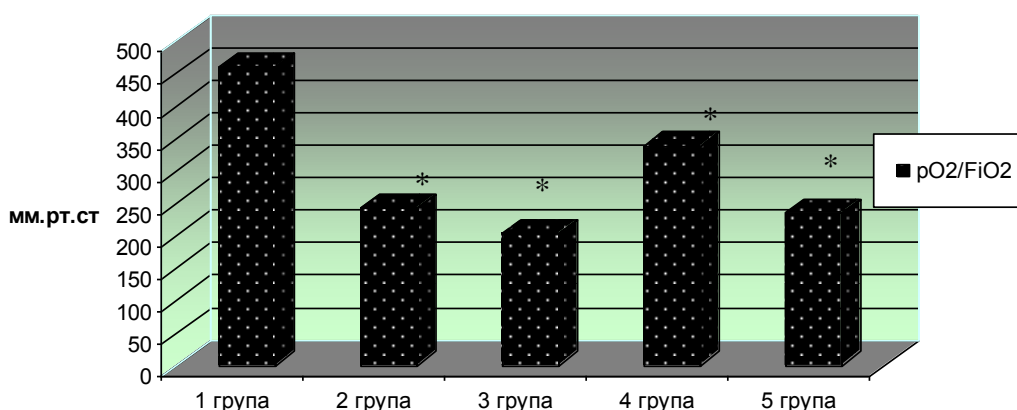


Рис. 3.4. Динаміка pO_2/FiO_2 артеріальної крові при гострому ураженні легень.

Примітка: * – достовірність відмінностей показників порівняно з контролем – ($p < 0,01$).

У перші 6 год експерименту виявлено порушення кислотно-лужного балансу у вигляді респіраторного ацидозу, обумовленого підвищенням у крові pCO_2 та зниженням pO_2 і рН. Потрібно зауважити, що ацидоз зменшує спорідненість гемоглобіну з киснем, що суттєво посилює тканинну гіпоксію [342, 343].

Зростання рН артеріальної крові, незначне зниження pCO_2 та підвищення pO_2 свідчать про компенсацію дихального ацидозу через 12 год експерименту. Як відомо, за компенсованого ацидозу зазвичай інтенсифікуються процеси пероксидації [344, 345]. Проведені нами дослідження вказують на те, що при ГУЛ відбувається інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення, активація антиоксидного захисту в перші години після ураження носить компенсаторний характер, проте цей механізм адаптації виснажується через 12 год експерименту. Також нами встановлено, що покращення оксигенації у 4-ій групі було тимчасовим і через 24 год спостереження відбувалося поглиблення респіраторного ацидозу.

Практично всі критичні стани супроводжуються порушенням кисневого транспорту. В одних випадках спостерігається зниження доставки

кисню, а в інших, навпаки, значне його підвищення. Важливим компонентом кисневого транспорту є утилізація кисню клітинами, яка в різних клінічних ситуаціях може змінюватися в широких межах [346, 347]. Встановлено, що у тварин з модельованим гострим ураженням легень через 2 год $AaDO_2$ збільшувався у 7,1 раза (контроль – $(6,64 \pm 1,83)$, через 2 год – $(47,30 \pm 0,69)$, $p < 0,01$), після 6 год експерименту $AaDO_2$ підвищувався на 5,5 % порівняно з 2-ою дослідною групою, тоді як через 12 год відмічалось зменшення показника на 44,0 % ($p < 0,01$) порівняно з 3-ою експериментальною групою, а через 24 год він знову зростав на 60,8 % стосовно 4-ої групи ($p < 0,001$).

Оскільки показники насичення артеріальної крові киснем на тлі ГУЛ були меншими порівняно із контролем, то й відповідно у дослідних групах збільшувався альвеолярно-артеріальний градієнт за киснем. Даний показник підтверджує зменшення ступеня насичення крові киснем в умовах ГУЛ. Результати показали, що в умовах патології він значно знижувався, що може бути використано додатковим критерієм діагностики та оцінки перебігу ГУЛ.

Наведені результати відповідають існуючим положенням про відхилення, які виникають на тлі розвитку ГУЛ [348-351], що вказує на адекватність моделі, коректність її виконання, ефективний метод забору артеріальної крові. Враховуючи значну роль в патогенезі ГУЛ процесів гіпоксії було вивчено інтенсивність одних із чутливих маркерів гіпоксії – процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту. Крім цього, дані критерії характеризують й інтенсивність запальної реакції в організмі.

3.2 Особливості центральної гемодинаміки в умовах експериментального гострого ураження легень

У патогенезі гострого ураження легень можна виділити багато важливих ланок, зокрема, зниження капілярного кровотоку, легеневий набряк, альвеолярний колапс, що поєднується із втратою сурфактанту та ін. [352].

Провідним патогенетичним механізмом гострого ураження легень є акумуляція нейтрофілів у легенях, що обумовлює як локальне, так і системне пошкодження тканин, і вплив медіаторів запалення на стан системної гемодинаміки, зокрема величину ударного викиду, тонус судин, характер артеріального кровонаповнення і венозного відпливу [353]. Ці дані експериментально можна одержати на основі інтегральної реографії (ІРТ) – неінвазивного методу, який досить чітко характеризує стан системної гемодинаміки [354, 355].

Враховуючи те, що у відповідь на пошкоджуючу дію організм реагує як єдине ціле, відповідаючи комплексом взаємозв'язаних патологічних реакцій, які проявляються не тільки в осередку ураження, але й у всіх внутрішніх органах і системах організму, впливаючи тим самим на протікання процесів на місцевому рівні. Крім цього, ІРТ – метод, який дозволяє оцінити інтенсивність центрального кровотоку у взаємозв'язку із дихальною системою, що особливо важливо в умовах ураження легень.

Дослідження показали, що в динаміці гострого ураження легень не відмічалось істотних відхилень від рівня контролю величини ДКІ, РДІ та КІТ, що вказує на відсутність порушень венозного відпливу та опору артеріальних судин тварин з гострим ураженням легень.

Разом з тим РСІ істотно підвищувався на 6 і 24 год (відповідно на 25,5 і 24,9 %; $p < 0,05$). Величина УО у всі терміни спостереження була підвищеною (у середньому на 35,1 %; $p < 0,05$). Рівень ЧСС на 6 год зменшувався (на 20,1 %; $p < 0,05$), проте в наступні терміни істотно не відрізнявся від рівня контролю. У свою чергу, ЧД на 6 і 12 год залишалася стабільною й тільки на 24 год зазнавала суттєвого підвищення (на 18,6 %; $p < 0,05$) (рис. 3.5).

Одержані результати свідчать про адаптаційну перебудову центральної гемодинаміки у відповідь на введення хлоридної кислоти у трахею. Насамперед звертає на себе увагу антифазова динаміка РСІ та ЧСС.

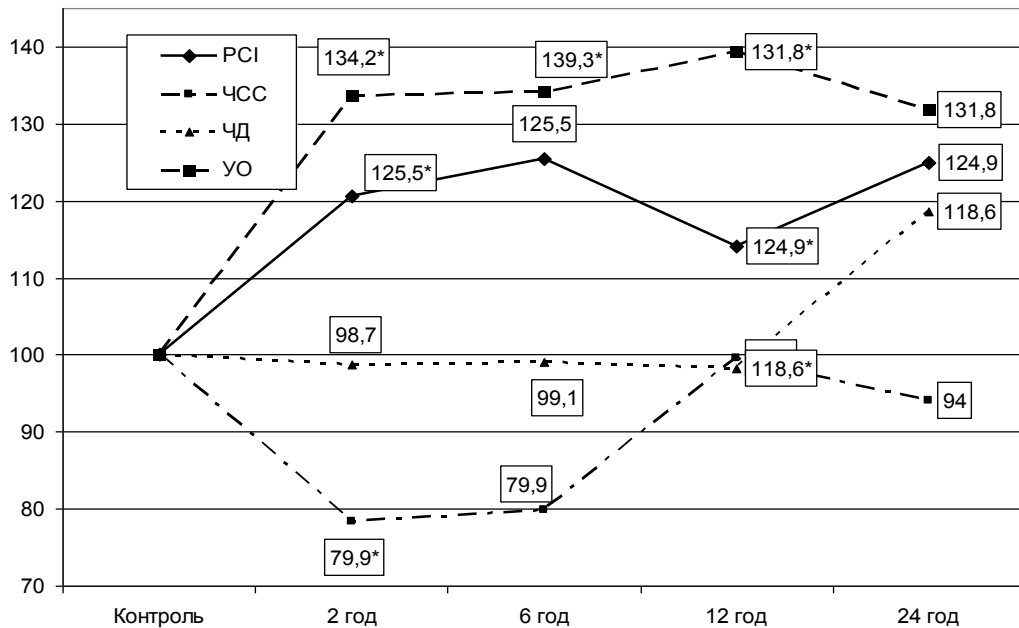


Рис 3.5. Динаміка показників центральної гемодинаміки та зовнішнього дихання на тлі модельованого гострого респіраторного ураження легень (у відсотках до рівня контролю).

Примітка: * – відмінності стосовно контрольної групи статистично достовірні, $p < 0,05$).

На тлі зниження ЧСС компенсаторно підвищувалося пульсове кровонаповнення досліджуваної ділянки впродовж усього експерименту. На 12 і 24 год збільшувався хвилинний об'єм крові, на що вказувало підвищення УО на тлі стабільної ЧСС. Все це вказує на посилення інотропних впливів на серцевий м'яз і розвиток централізації кровообігу в умовах досліджуваної патології, при якій відмічається перерозподіл крові з периферійних ділянок тіла у центральну.

Аналогічні зміни відмічають й інші автори у перший період тяжкої травми [356]. Механізм цього ефекту полягає у виділенні катехоламінів, які стимулюють альфа-рецептори периферійних кровоносних судин, що призводить до їх спазму, і бета-рецептори серця, що збільшує силу серцевих скорочень. Звуження просвіту периферійних судин шкіри, скелетної мускулатури веде до централізації кровообігу для кровопостачання життєво важливих органів і, в першу чергу, головного мозку і серця.

Отримані відхилення компенсують дихальну недостатність впродовж 6-12 год. Проте на 24 год відмічалось збільшення ЧД, що є свідченням поглиблення ураження респіраторної системи. В цей момент відмічався другий пік підвищення РСІ та зростання ДКІ (на 14,3 %; $p < 0,05$), що вказувало на підвищення кровонаповнення і наростання тонуусу артеріальних судин. Все це поглиблювало компенсаторні відхилення на рівні регуляції центральної і периферичної гемодинаміки.

3.3 Динаміка показників пероксидного окиснення ліпідів на тлі гострого ураження легень

Як видно з даних табл. 3.1, через 2 год експерименту відмічалось підвищення дієнових кон'югатів (ДК) на 36,9 % і трієнових кон'югатів (ТК) на 38,0 % відносно контролю, проте рівень продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК-активних продуктів) ПОЛ мав лише тенденцію до зростання.

Таблиця 3.1

Показники пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові при експериментальному гострому ураженні легень, (М±m)

| Дослідна група | ДК, ммоль/л | ТК, ммоль/л | ТБК-активні продукти, ммоль/л |
|----------------|-------------|-------------|-------------------------------|
| I (n=12) | 1,11±0,09 | 1,21±0,09 | 3,35±0,11 |
| II (n=12) | 1,52±0,07* | 1,67±0,12* | 3,60±0,11 |
| p ₁ | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| III (n=12) | 2,24±0,10* | 2,26±0,10* | 4,83±0,08* |
| p ₂ | <0,001 | <0,05 | <0,001 |
| IV (n=12) | 2,86±0,08* | 2,65±0,11* | 6,09±0,13* |
| p ₃ | <0,01 | <0,001 | <0,001 |
| V (n=12) | 3,22±0,09* | 3,27±0,08* | 7,63±0,17* |

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

У 3-ій дослідній групі виявлено достовірне зростання досліджуваних показників ПОЛ проти даних не тільки 1-ої контрольної, але й 2-ої дослідної груп. Так, ДК підвищилися на 47,4 %, ТК – на 35,3 %, рівень ТБК-активних продуктів – на 34,2 % порівняно з отриманими результатами через 2 год. Потрібно зазначити, що в наступних дослідних групах продовжилось зростання показників ПОЛ, що свідчило про порушення балансу між швидкістю процесів утворення АФК і антиоксидною системою, що сприяло активації процесу пероксидного окиснення і призвело до повного розпаду ненасичених ліпідів.

Як видно з даних табл. 3.2, вже через 2 год експерименту (перша фаза ГУЛ) відмічалось достовірне підвищення як первинних, так і вторинних продуктів ПОЛ: ДК і ТК зросли в середньому на 45,0 %, ТБК-активні продукти на 32,0 % відносно контролю.

Таблиця 3.2

Показники пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті легень при експериментальному гострому ураженні легень, (M±m)

| Дослідна група | ДК, ммоль/кг | ТК, ммоль/кг | ТБК-активні продукти, ммоль/кг |
|----------------|--------------|--------------|--------------------------------|
| I (n=12) | 1,31±0,11 | 1,46±0,09 | 4,65±0,15 |
| II (n=12) | 1,90±0,06* | 2,09±0,09* | 6,13±0,18* |
| p ₁ | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| III (n=12) | 2,43±0,09* | 2,46±0,09* | 7,85±0,28* |
| p ₂ | <0,05 | <0,001 | <0,05 |
| IV (n=12) | 2,96±0,08* | 2,92±0,08* | 8,81±0,17* |
| p ₃ | <0,01 | <0,01 | <0,01 |
| V (n=12) | 3,36±0,09* | 3,35±0,11* | 9,61±0,13* |

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

При цьому протягом всього часу спостереження відбувалося наростання досліджуваних показників і через 24 год їх рівень був найвищий. Так, у 5-ій експериментальній групі ДК і ТК підвищились загалом на 130,0-150,0 %, ТБК-активні продукти – на 107,0 % відносно даних першої групи, що свідчить про важливу роль ініціації ПОЛ за даної патології.

Важливим було провести порівняльний аналіз між отриманими даними в крові та гомогенаті легень, який показав однонаправленість процесів вільнорадикального окиснення. Встановлено достовірне прогресуюче підвищення рівня ДК, ТК та ТБК-активних продуктів як у сироватці крові, так і в гомогенаті легень (рис. 3.6, 3.7).

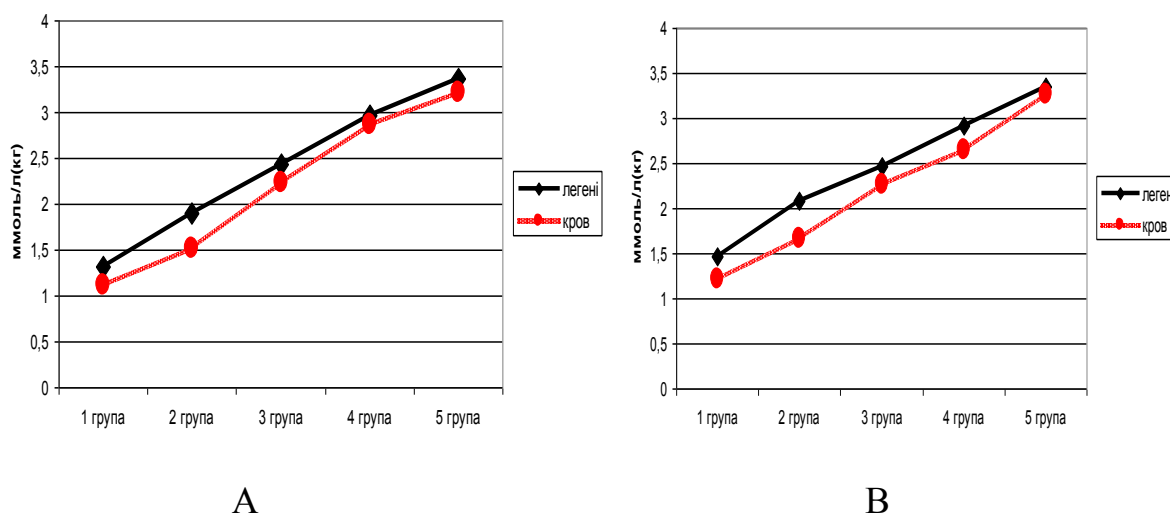


Рис. 3.6. Рівень ДК (А) та ТК (В) в сироватці крові та гомогенаті легень щурів за умови ГУЛ.

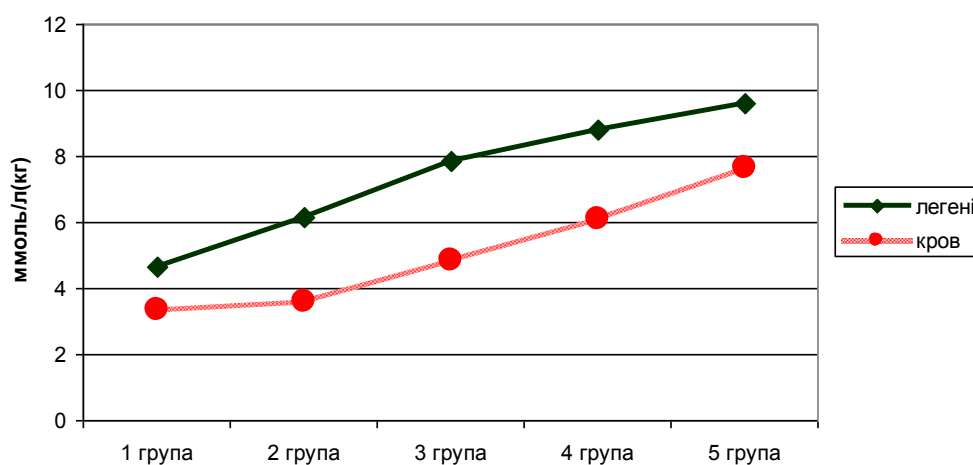


Рис. 3.7. Рівень ТБК-активних продуктів у сироватці крові та гомогенаті легень щурів за умови ГУЛ.

Виявилось, що при ГУЛ, незважаючи на однонаправленість змін досліджуваних показників ПОЛ, вільнорадикальні процеси активуються, насамперед, безпосередньо у вогнищі ураження, зокрема в легенях, а далі ці продукти потрапляють вторинно в гуморальні середовища організму, такі як кров.

Тому, в 2-ій дослідній групі рівень ТБК-активних продуктів у крові не відрізнявся від даних 1-ої групи. Даний факт підтверджений і в дослідженнях інших авторів, які вивчаючи рівень вільнорадикального окиснення ліпідів у різних тканинах інтактних щурів і кролів (аорта, печінка, мозок, міокард, сім'яники, плазма крові) встановили, що у плазмі крові вміст продуктів ПОЛ порівняно з іншими тканинами найнижчий [357].

Цікавим є й те, що при даній моделі ГУЛ відмічалось посилення окисдаційних процесів і в БАЗ, що проявлялось зростанням дієнових кон'югатів та вторинних ТБК-активних продуктів ПОЛ (рис. 3.8).

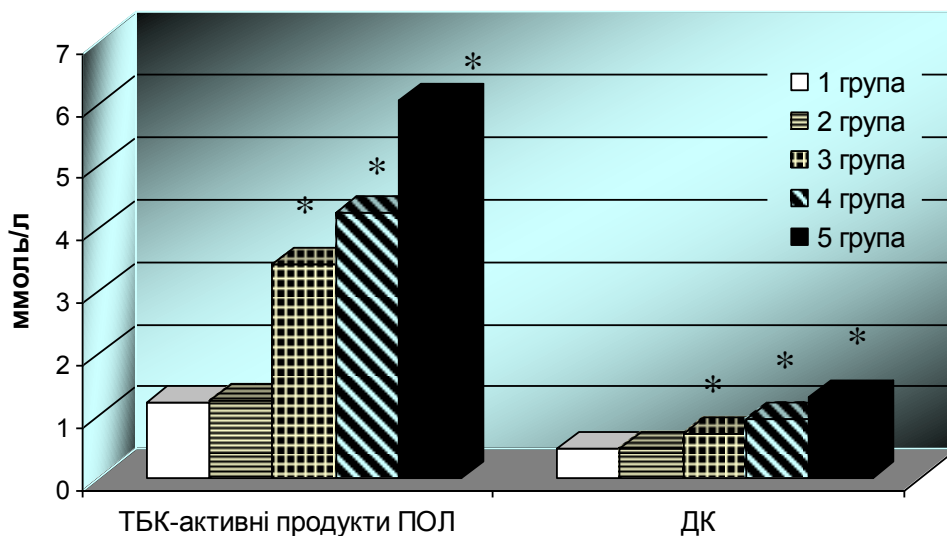


Рис. 3.8. Рівень ТБК-активних продуктів ПОЛ та ДК у бронхоальвеолярному змиві щурів за умови гострого ураження легень. Примітка. * – вірогідні зміни між інтактними тваринами та ураженими хлоридною кислотою.

Потрібно зауважити, що на відміну від гомогенату легень у перші 2 год ураження в БАЗ рівень досліджуваних показників не відрізнявся від

контролю. Проте в 3-ій експериментальній групі рівень ТБК-активних продуктів різко зростав у 2,9 рази стосовно контролю і на 173,6 % відносно 2-ої групи ($p < 0,001$), в 4-ій – у 3,5 рази проти контролю та на 24,3 % ($p < 0,001$) стосовно даних 3-ої групи і в 5-ій – у 5 разів перевищував результати 1-ої групи і на 42,4 % ($p < 0,001$) попередню групу.

Схожі результати отримані і при аналізі рівня ДК у БАЗ (див. рис. 3.8). Так, ДК у 1-ій та 2-ій групі були практично однаковими, тоді як у 3-ій групі їх рівень зростав на 52,2 % відповідно до 2-ої групи, у 4-ій – на 35,7 % проти даних 3-ої групи і в 5-ій – на 37,9 % стосовно 4-ої групи. Загалом, рівень ДК протягом часу спостереження підвищувався у 2,9 рази порівняно з контролем.

Відповідно до аналізу отриманих даних можна свідчити про те, що в ранній фазі ГУЛ (перші 2 год після ураження) показовими щодо порушень у системі ПОЛ є гомогенат легень. У пізніші терміни легеневого пошкодження в якості діагностичного критерія дисбалансу про-антиоксидної системи можна використовувати показники ПОЛ у сироватці крові та БАЗ, причому зміни у цих біологічних рідинах відбуваються односпрямовано і співдружно.

3.4 Особливості окиснювальної модифікації білкових молекул при експериментальному гострому ураженні легень

Вважається, що деструкція білків є надійнішим маркером окиснювальних пошкоджень тканин, ніж ПОЛ, оскільки продукти ОМБ стабільніші, порівняно з пероксидами ліпідів, які швидко метаболізуються під дією пероксидаз та низькомолекулярних антиоксидантів [358]. Відомо, що відновлення окиснених білків практично не відбувається. Вони стають мішенню для дії специфічних нейтральних та лужних протеаз, активність яких залежить від багатьох факторів [359].

Як видно із даних, наведених на рисунку 3.9, у щурів 2-ої дослідної групи як у сироватці крові, так і в гомогенаті легень спостерігалось

підвищення вмісту альдегідо- і кетоніпохідних нейтрального характеру у порівнянні із контрольною групою ($(0,90 \pm 0,02)$ проти $(0,67 \pm 0,01)$ ммоль/г білка у крові, ($p < 0,01$) та $(1,19 \pm 0,01)$ проти $(0,96 \pm 0,02)$ ммоль/г білка в легенях, ($p < 0,01$)). Така ж сама тенденція спостерігалася і в інших дослідних групах. Так, у сироватці крові окислювальна модифікація білків зростала у 3-ій дослідній групі на 26,7 % порівняно з 2-ою групою ($p < 0,01$), у 4-ій - на 27,2 % на противагу 3-ої ($p < 0,01$) та в 5-ій - на 21,9 % у порівнянні з 4-ою дослідною групою ($p < 0,01$). Згідно з нашими даними, окисні процеси в гомогенаті легень теж рівномірно підвищувалися протягом доби (рис. 3.9) і через 24 год експерименту майже втричі перевищували показники контрольної групи ($p < 0,001$).

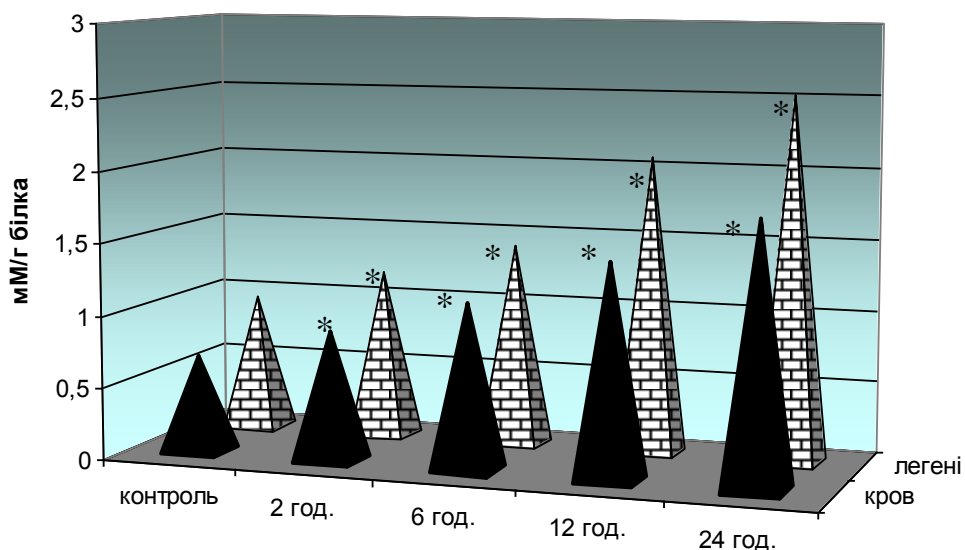


Рис. 3.9. Вміст альдегідо- і кетоніпохідних нейтрального характеру у сироватці крові та гомогенаті легень у динаміці експериментального гострого ураження легень, $n=12$.

Примітка. * – вірогідні зміни між інтактними тваринами та ураженими хлоридною кислотою.

Так, вміст альдегідо- і кетоніпохідних нейтрального характеру у 5-ій дослідній групі становив $(1,78 \pm 0,07)$ ммоль/г білка проти контролю

($0,67 \pm 0,01$) ммоль/г білка у крові, ($p < 0,001$) та ($2,52 \pm 0,05$) ммоль/г білка проти даних 1-ої групи ($0,96 \pm 0,02$) ммоль/г білка у легенях, ($p < 0,01$).

Згідно отриманих даних, наведених на рисунку 3.10, у щурів 2-ої дослідної групи як у сироватці крові, так і в гомогенаті легень спостерігалось підвищення вмісту альдегідо- і кетонпохідних основного характеру у порівнянні із контрольною групою ($0,84 \pm 0,05$) проти ($0,49 \pm 0,04$) ммоль/г білка у крові, $p < 0,001$ та ($0,92 \pm 0,05$) проти ($0,62 \pm 0,04$) ммоль/г білка в легенях, ($p < 0,01$). Така ж сама тенденція спостерігалася і в інших дослідних групах.

Так, у сироватці крові ОМБ зростали у 3-ій дослідній групі на 25,0 % порівняно з 2-ою групою ($p < 0,001$), у 4-ій на 36,2 % на протипагу 3-ої ($p < 0,01$) та в 5-ій на 18,9 % порівняно з 4-ою дослідною групою ($p < 0,01$).

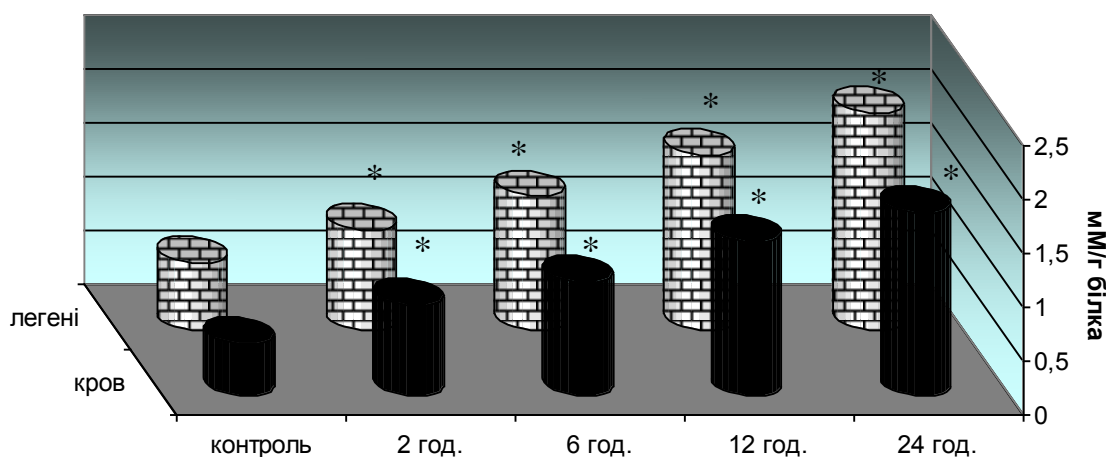


Рис. 3.10. Вміст альдегідо- і кетонпохідних лужного характеру у сироватці крові та гомогенаті легень у динаміці експериментального гострого ураження легень, $n=12$.

Примітка. * - вірогідні зміни між інтактними тваринами та ураженими хлоридною кислотою.

Згідно з нашими даними, окиснювальні процеси у гомогенаті легень теж рівномірно підвищувалися протягом доби (рис. 3.10). Відповідно вміст

альдегідо- і кетоніпохідних основного характеру в гомогенаті легень у 3-ій дослідній групі переважав на 34,8 % показники 2-ої групи ($p < 0,001$), у 4-ій на 30,7 % дані 3-ої ($p < 0,001$) та в 5-ій на 24,7 % результати 4-ої дослідної групи ($p < 0,001$). Встановлено, що через 24 год експерименту вміст альдегідо- і кетоніпохідних основного характеру майже в 3,5 рази перевищував показники контрольної групи як в сироватці крові, так і гомогенаті легень ($p < 0,001$).

Порівнюючи рівень альдегідо- і кетоніпохідних основного й нейтрального характерів можна стверджувати про односпрямовані їх зміни, які вказують на глибоке ураження білкової структури при даній моделі ГУЛ.

Проведений кореляційний аналіз альдегідо- і кетоніпохідних основного й нейтрального характерів у сироватці крові й гомогенаті легень свідчить про прямий кореляційний зв'язок середньої сили в усіх групах спостереження.

Отже, за умов експериментального ГУЛ спостерігається висока інтенсивність окиснювальних модифікацій білків і ліпідів крові, що може бути пов'язано із збільшенням активних форм кисню. Дослідження цих показників може слугувати критерієм для визначення ступеня ураження та прогнозу захворювання.

3.5 Роль монооксиду нітрогену в процесах вільнорадикального окиснення при гострому ураженні легень в експерименті

Характеризуючи зміни вмісту нітрит-аніону в сироватці крові експериментальних тварин з ГУЛ слід зазначити, що ця величина вже через 2 год дослідів перевищувала показники у тварин контрольної групи ($p < 0,01$) і не знижувалася протягом 24 год спостереження.

Через 6 год експерименту (2 фаза HCl-індукованого ГУЛ) NO_2^- зростала в 1,3 рази, порівняно з 2-ою дослідною групою. Максимального значення концентрація нітрит-аніону набула через 24 год експерименту, при

цьому отримані результати в 1,4 раза перевищували дані 4-ої дослідної групи і майже вдвічі показники контрольної групи (табл. 3.3).

Із таблиці 3.3 випливає, що концентрація нітрит-аніону в сироватці крові експериментальних тварин з ГУЛ протягом 24-ох год спостереження зросла на 89,1 %, порівняно з контролем, що свідчить про активацію генерації NO, яка може бути пов'язана з активацією експресії гену NOS, підвищенням кількості L-аргініну, зростанням перекоксидного окиснення ліпідів та пригніченням антиоксидного захисту, що підтверджено нашими дослідженнями.

Таблиця 3.3

Рівень нітрит-аніону в сироватці крові та гомогенаті легень при експериментальному гострому ураженні легень, (M+m)

| Дослідна група | Нітрит-аніон | |
|----------------|------------------------------|--------------------------------|
| | сироватка крові, мкмоль/л | гомогенат легень, мкмоль/кг |
| I (n=12) | 1,47±0,02 | 1,62±0,01 |
| II (n=12) | 1,74±0,05* | 1,86±0,04* |
| p ₁ | <0,05 | <0,001 |
| III (n=12) | 2,17±0,11* | 2,25±0,11* |
| p ₂ | >0,05 | <0,001 |
| IV (n=12) | 2,39±0,08* | 5,35±0,13* |
| p ₃ | <0,05 | >0,05 |
| V (n=12) | 2,78±0,08* | 5,47±0,15* |

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

Характеризуючи кількість нітрит-аніону в гомогенаті легень експериментальних тварин з ГУЛ слід зазначити, що ця величина достовірно зростала протягом всього спостереження. Через 2 год та 6 год рівень NO₂⁻ збільшувався відповідно на 14,1 % і 38,7 %, порівняно з контролем (p<0,001).

У 4-ій дослідній групі концентрація нітрит-аніону зростала в 1,4 раза, порівняно з 3-ою експериментальною групою, і більш, ніж утричі, порівняно з результатами контрольної групи. Отримані дані на 12 год експерименту практично не змінювалися й через добу досліду ($p > 0,05$), але залишалися високими відповідно контролю ($p < 0,001$) (табл. 3.3).

Цікавим було і те, що, порівнюючи динаміку нітрит-аніону в сироватці крові та гомогенаті легень (рис. 3.11), виявлялися теж 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 год досліду, яке трималося протягом доби. Це свідчить про залучення до патогенетичного каскаду HCl-індукованого гострого ураження легень ендотеліальних механізмів. На це вказує активація ендотеліального розслаблюючого фактору, основним діючим фактором якого є оксид азоту, що регулює місцевий судинний тонус та кровоплин.

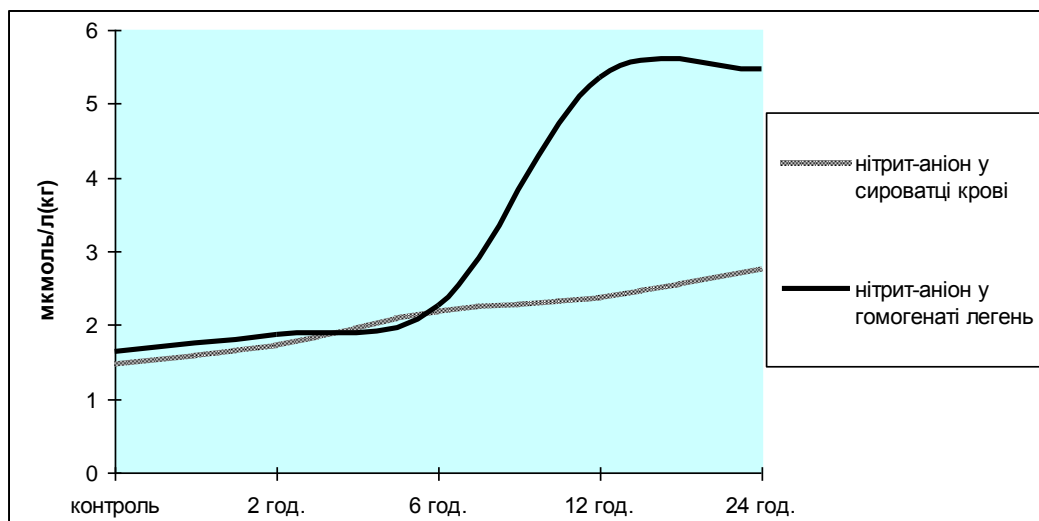


Рис. 3.11. Порівняльна динаміка вмісту NO_2^- у сироватці крові та гомогенаті легень щурів з гострим ураженням легень.

Проведений кореляційний аналіз вказав на тісний прямий взаємозв'язок нітрит-аніону в крові та гомогенаті легень, який набував сили в міру розвитку ГУЛ (табл. 3.4). Це вказує на те, що зростання оксиду азоту в легенях зумовлює відповідні зміни в сироватці крові.

В умовах оксидативного стресу NO взаємодіє з супероксидним аніоном, у результаті чого утворюється пероксинітрит. Саме з ним пов'язана пошкоджуюча дія NO на біологічні макромолекули, зокрема, білки та ліпіди, що, у свою чергу, призводить до зрушення рівноваги між процесами інактивації активних форм кисню, яке зумовлює порушення структури і функції клітинних мембран та закінчується загибеллю клітини [360].

Таблиця 3.4

Кореляційні зв'язки вмісту нітрит-аніону у сироватці крові (мкмоль/л) та гомогенаті легень (мкмоль/кг) щурів з гострим ураженням легень

| Показник | 2 група | 3 група | 4 група | 5 група |
|--------------|----------|----------|----------|----------|
| Нітрит-аніон | r =0,58* | r =0,69* | r =0,64* | r =0,82* |

Примітка: * – достовірність відмінностей коефіцієнтів кореляції – ($p < 0,05$).

Таким чином, на підставі отриманих результатів, які свідчать про системне та локальне підвищення метаболітів оксиду азоту у щурів із модельованим ГУЛ, можна опосередковано стверджувати про розвиток ендотеліальної легеневої дисфункції.

3.6 Стан системи антиоксидного захисту у щурів за умови гострого ураження легень

Для вивчення процесів вільнорадикального окиснення важлива роль приділяється не тільки ПОЛ та ОМБ, але й антиоксидній системі (АОС) організму, що включає ферментні й неферментні ланки [361]. Ферменти АОС, до яких відноситься каталаза та супероксиддисмутаза (СОД), здатні нейтралізувати високоактивні супероксидні аніони, пероксид водню, гідроперекиси жирних кислот, запобігаючи накопиченню особливо токсичних вторинних продуктів ПОЛ [362].

Ключовим ферментом антирадикального захисту, який дисмутує супероксид-радикал до менш токсичного перекису водню є СОД.

Встановлено, що його рівень в крові у 2-ій дослідній групі достовірно не відрізнявся від контролю, тоді як в 3-ій групі зафіксовано вірогідно високі значення СОД, яка перевищувала на майже 11,0 % дані попередньої групи. Через 12 год після інтратрахеального введення хлоридної кислоти щурам рівень СОД знизився на 14,0 % відносно 3-ої дослідної групи, і залишався низьким через 24 год. При цьому, у даний період рівень СОД був меншим на 25,3 % відносно 4-ої дослідної групи. Загалом, протягом спостереження зміна СОД мала коливальний характер і під кінець доби зменшилась на 33,1 % (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Показники системи антиоксидного захисту в сироватці крові при експериментальному ГУЛ, (M±m)

| Дослідна група | СОД, ум.од. | Каталаза, мкат/л | Церулоплазмін, мг/л | SH-групи, ммоль/л |
|----------------|-------------|------------------|---------------------|-------------------|
| I (n=12) | 47,96±0,74 | 42,58±1,26 | 350,67±6,00 | 70,26±2,09 |
| II (n=12) | 46,41±0,82 | 46,46±1,86 | 367,00±10,10 | 66,08±1,80 |
| p ₁ | <0,001 | >0,05 | <0,001 | >0,05 |
| III (n=12) | 51,48±0,72* | 49,79±1,06* | 430,67±7,44* | 64,72±2,54 |
| p ₂ | <0,001 | >0,05 | <0,001 | <0,001 |
| IV (n=12) | 45,16±1,18* | 47,41±0,78* | 392,25±9,33* | 56,82±1,81* |
| p ₃ | <0,001 | <0,001 | <0,001 | <0,05 |
| V (n=12) | 36,03±1,10* | 34,45±1,18* | 326,08±6,17* | 50,13±1,84* |

Примітки: В табл. 3.5 і 3.6 * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідною групою в даний термін обстеження; p₁ – достовірність відмінностей між дослідними групами II і III; p₂ – достовірність відмінностей між дослідними групами III і IV; p₃ – достовірність відмінностей між дослідними групами IV і V.

Схожі зміни проходили і в легенях, рівень СОД набув максимальних значень через 12 год експерименту, проте через 24 год він суттєво не відрізнявся від контролю (табл. 3.6).

Показники системи антиоксидантного захисту в гомогенаті легень при експериментальному ГУЛ, (M±m)

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

Іншим показником антиоксидної системи є каталаза, яка запобігає утворенню пероксиду водню, що відбувається за дисмутації супероксидного аніона та в інших реакціях. Як видно з даних табл. 3.5, через 2 год експерименту активність каталази в сироватці крові мала тенденцію до зростання, проте достовірно не відрізнялась від контролю. Через 6 год експерименту (2 фаза HCl-індукованого ГУЛ) виявлено суттєве зростання активності каталази на 16,9 % проти 1-ої групи ($p < 0,001$) та тенденцію до зниження порівняно з попередньою дослідною групою. Встановлено, що протягом 12 год спостереження рівень даного показника коливався статистично незначимо. Кардинально інші результати отримані в 5-ій групі, які вказують на зниження активності каталази на 37,6 % відносно 4-ої групи та на 23,6 % відповідно до контролю ($p < 0,001$). У гомогенаті легень відмічено наростання активності каталази в 2-ій, 3-ій та 4-ій групах, причому встановлено достовірне зростання активності каталази на 81,0 % через 6 і 12 год спостереження ($p < 0,001$). Через 24 год дослідження відбулося суттєве зниження даного показника на 28,2 % стосовно 4-ої групи, проте активність

каталази в цій групі було достовірно вище на 42,1 % результатів контролю (див. табл. 3.6).

Проведений порівняльний аналіз СОД в сироватці крові та гомогенаті легень показав односпрямованість змін даного показника. Так, активність досліджуваного ферменту максимально зростала в крові та гомогенаті легень у другій фазі НСІ-індукованого ГУЛ, а через 12 год дослідження відбувалося виснаження антиоксидних резервів у крові й легенях (рис. 3.12).

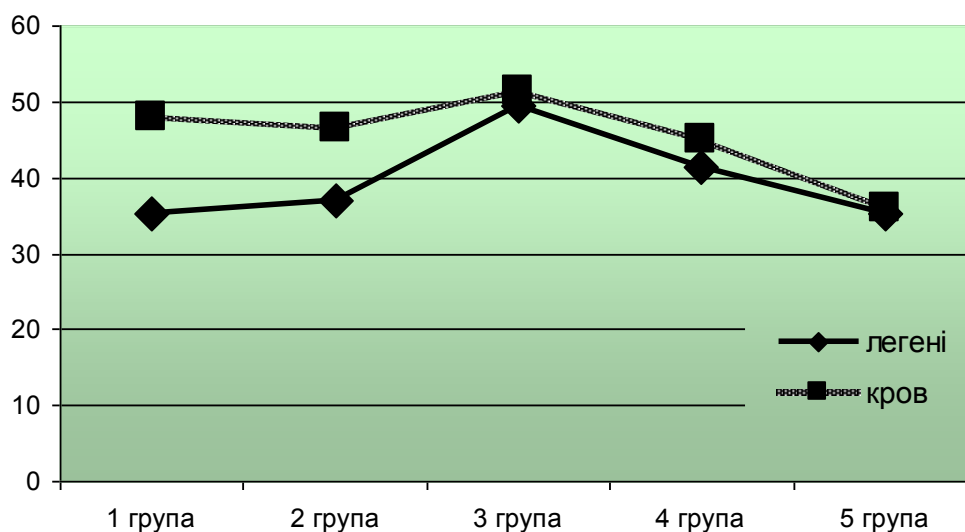


Рис. 3.12. Рівень СОД (ум.од.) в крові та гомогенаті легень щурів при гострому ураженні легень.

Потрібно зауважити, що активність каталази як в крові, так і в гомогенаті легень однонаправлено зростала в 2-ій і 3-ій дослідних групах, причому в легенях дані зміни були яскравіше виражені, досягаючи максимальних значень на 6 год експерименту, практично не змінювалася протягом наступних 6 год і знижувалася через добу після моделювання ГУЛ (рис. 3.13).

Виявлені зміни активності СОД і каталази мають спільні риси, які проявляються компенсаторною реакцією у перші години ГУЛ, максимальним напруженням антиоксидних механізмів на 6 год експерименту та виснаженням антиоксидних резервів у крові та гомогенаті легень через 12 год дослідження.

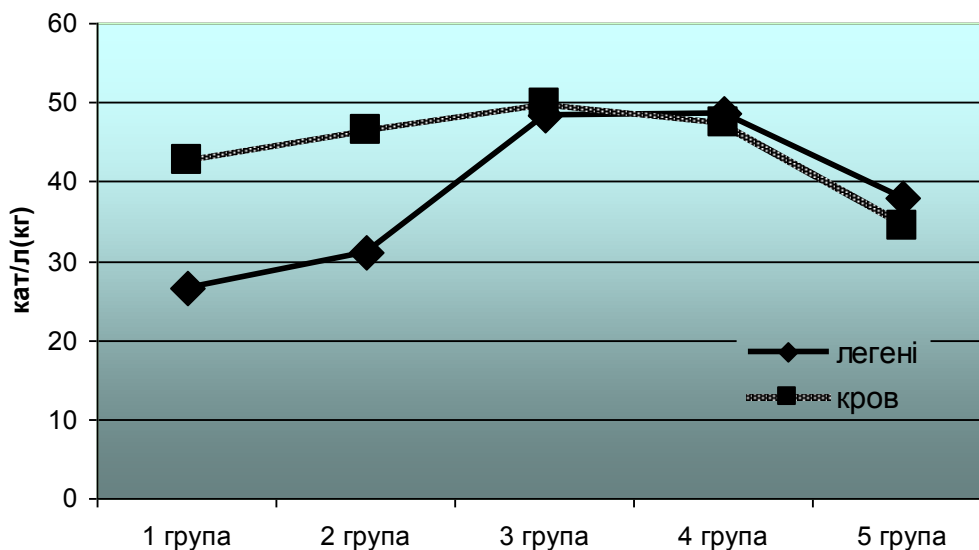


Рис. 3.13. Активність каталази в крові та гомогенаті легень щурів при гострому ураженні легень.

Особливу роль у системі антиоксидного захисту організму відіграє білок церулоплазмін, який є головним позаклітинним антиоксидантом. За фізіологічних умов церулоплазмін крові інгібує близько 50,0 % всієї активності ПОЛ сироватки крові [362]. Більша частина церулоплазміну синтезується гепатоцитами печінки та епітеліоцитами легень [363]. Антиоксидантна та антигіпоксична його дія обумовлена активацією ендогенних систем, забезпечує захист організму від гіпоксії [363-365].

При HCl-індукованому ГУЛ в сироватці крові у 2-ій дослідній групі відмічено незначне зростання церулоплазміну, тоді як в 3-ій експериментальній групі рівень даного показника був достовірно вищий даних 2-ої та 1-ої груп ($p < 0,001$). Проте на 12 год кількість церулоплазміну зменшилась на 10,0 % порівняно з попередньою групою. Відмічено також низькі цифри церулоплазміну в 5-ій групі, які були приблизно на 20,0 % меншими результатів 4-ої групи ($p < 0,001$) (див. табл. 3.5). При цьому іншими дослідженнями встановлено, що зниження церулоплазміну у крові обумовлене підвищеною проникністю альвеолярного епітелію та рухом цього ферменту з крові у легені [366, 367].

Важливу роль в антиоксидному захисті організму відіграють тіолдисульфідні сполуки. До них належать глутатіон, що утворений цистеїном, глютаміном і гліцином, SH- і SS-групи білків і ферменти глутатіонтрансфераза, глутатіонпероксидаза і глутатіонредуктаза. У фізіологічних умовах ця система чітко врівноважена [363, 364]. При вираженому оксидативному стресі можливе зрушення в системі SH/SS в напрямку зменшення вільних SH-груп і накопичення в подальшому продуктів пероксидного окиснення ліпідів і білків, що, у свою чергу, посилює оксидативний стрес. Оpubліковано ряд праць, автори яких першочергову роль відводять саме тіолдисульфідній системі у захисті організму від вільнорадикального пероксидного окиснення, зокрема зниження пероксиду водню та пероксинітриту, що виробляються активованими нейтрофілами при легневих ураженнях [365-371]. Встановлено, що протягом спостереження рівень SH-груп у сироватці крові поступово знижувався і в 5-ій групі він на 40,16 %, але був нижчий даних контролю ($p < 0,001$) (див. табл. 3.5).

Для проведення порівняльної характеристики змін системи антиоксидного захисту в крові було прирівняно показники 1-ої групи (контроль) до 100,0 %. Встановлено, що зміни досліджуваних показників мали схожий коливальний характер. До 6 год експерименту відбувалася активація антиоксидного захисту організму, причому найяскравіші зміни стосуються активації СОД і церулоплазміну (рис. 3.14).

Проте через 12 год дослідження антиоксидантні резерви вичерпувались і відбувалося зниження активності основних сполук антиоксидного захисту. У 5-ій дослідній групі найнижчих цифр досягали СОД і каталаза, що свідчить про ймовірно їх важливу роль у механізмі про-антиоксидного дисбалансу в патогенезі ГУЛ.

Такі зміни можна розцінити як компенсаторну реакцію антиоксидної системи у відповідь на інтенсифікацію процесів пероксидації. Для визначення сумарної антиоксидантної активності інгібіторів вільноради-

кальних реакцій, які присутні в плазмі крові, досліджено рівень загальної антиоксидантної активності (ЗАОА). Встановлено, що в 2-ій дослідній групі ЗАОА мала тенденцію до зниження, а вже в 3-ій групі спостерігалось достовірне зниження даного показника на 31,4 % проти 2-ої групи, в 4-ій – на 16,1 % відносно 3-ої групи і в 5-ій – на 21,8 % відповідно до результатів попередньої групи (рис. 3.15). Загалом, протягом терміну спостереження ЗАОА зменшилась з $(49,38 \pm 0,64)$ % (контроль) до $(25,38 \pm 0,79)$ %.

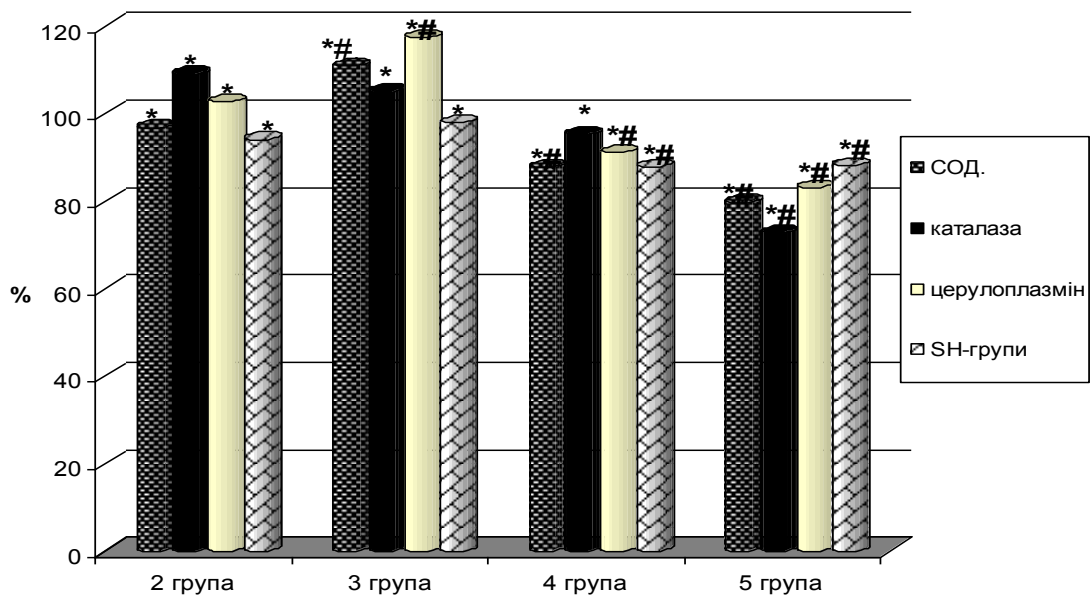


Рис. 3.14. Відсоткова динаміка показників антиоксидного захисту в крові тварин різних експериментальних груп при гострому ураженні легень (100 % – показник інтактних тварин).

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

Проведений кореляційний аналіз показав, що ферменти СОД і каталаза позитивно корелюють між собою в усіх дослідних групах, причому в 2-ій та 4-ій групах мав місце зв'язок середньої сили, а в 3-ій та 5-ій групах встановлено сильний кореляційний зв'язок (табл. 3.7). Це може бути пов'язане з переключенням потоку електронів з одного ланцюга транспорту на інший. У цих умовах СОД і каталаза діють як ланцюги однієї системи

утилізації вільних радикалів. Важливим моментом ефективності ферментної ланки антиоксидантної системи є збалансованість активності СОД і каталази, причому пригнічення одного із ферментів веде до зниження активності іншого, внаслідок чого відбувається надмірна генерація активних форм кисню та деструкція клітин [372, 373].

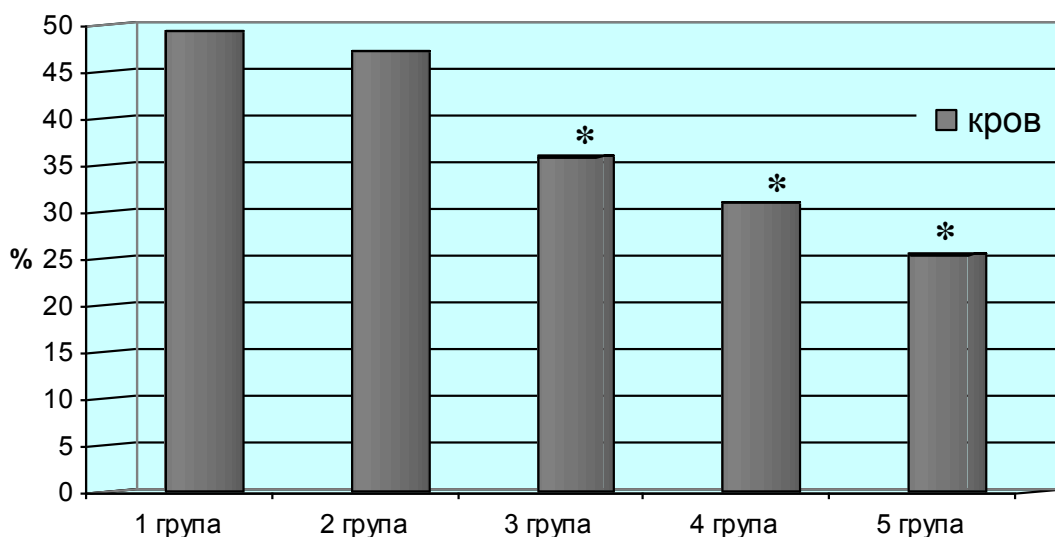


Рис. 3.15. Рівень загальної антиоксидантної активності плазми крові у щурів при ГУЛ.

Примітка: * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідною групою в даний термін обстеження.

Встановлено також достовірний позитивний кореляційний зв'язок між ферментами СОД, каталазою і церулоплазміном ($p < 0,05-0,01$) (табл. 3.7). Відомо, що СОД і каталаза являються внутрішньоклітинними антиоксидантами, тоді як церулоплазмін проявляє свою активність у сироватці крові [374]. Відповідно механізм дії церулоплазміну полягає у видаленні токсичних радикалів супероксидного аніону, що є продуктом аеробного метаболізму, за рахунок його електроніоакцепторних властивостей [375]. Наше дослідження показало, що при експериментальному ГУЛ відбувається однонаправлене та співдружнє посилення внутрішньоклітинних та позаклітинних антиоксидантних властивостей ферментів.

Таблиця 3.7

**Кореляційні зв'язки між показниками системи антиоксидного захисту
в крові при експериментальному гострому ураженні легень**

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|---------------------|---------------------|----------------|--------------------------------|---|
| СОД, ум. од. | Каталаза, мкат/л | 2 | 0,70 | <0,05 |
| | | 3 | 0,89 | <0,01 |
| | | 4 | 0,66 | <0,05 |
| | | 5 | 0,81 | <0,01 |
| СОД, ум. од. | Церулоплазмін, мг/л | 2 | 0,58 | <0,05 |
| | | 3 | 0,63 | <0,05 |
| | | 4 | 0,59 | <0,05 |
| | | 5 | 0,79 | <0,01 |
| Каталаза, мкат/л | Церулоплазмін, мг/л | 2 | 0,65 | <0,05 |
| | | 3 | 0,51 | >0,05 |
| | | 4 | 0,80 | <0,01 |
| | | 5 | 0,84 | <0,01 |
| СОД, ум. од. | SH-групи, ммоль/л | 2 | 0,25 | >0,05 |
| | | 3 | -0,58 | <0,05 |
| | | 4 | -0,37 | >0,05 |
| | | 5 | 0,58 | <0,05 |
| Каталаза, мкат/л | SH-групи, ммоль/л | 2 | 0,29 | >0,05 |
| | | 3 | -0,61 | <0,05 |
| | | 4 | -0,05 | >0,05 |
| | | 5 | 0,76 | <0,01 |
| Церулоплазмін, мг/л | SH-групи, ммоль/л | 2 | 0,10 | >0,05 |
| | | 3 | -0,59 | <0,05 |
| | | 4 | -0,13 | >0,05 |
| | | 5 | 0,58 | <0,05 |

Звертає на себе увагу відмінність динаміки ключових ферментів системи антиоксидантного захисту – СОД і каталази та ЗАОА (табл. 3.8). Це вказує на те, що індуцибельність цих ферментів у перші 6 год ураження ще не дає об'єктивної характеристики ЗАОА, яка є вагомішою для характеристики стану антиоксидної системи.

Таблиця 3.8

Кореляційні зв'язки між ЗАОА та показниками системи антиоксидного захисту в крові при експериментальному гострому ураженні легень

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|---------------------|---------------------|----------------|--------------------------------|---|
| ЗАОА, % | СОД, ум. од. | 2 | 0,59 | <0,05 |
| | | 3 | -0,63 | <0,05 |
| | | 4 | -0,15 | >0,05 |
| | | 5 | 0,57 | <0,05 |
| ЗАОА, % | Каталаза, мкат/л | 2 | 0,20 | >0,05 |
| | | 3 | -0,60 | <0,051 |
| | | 4 | -0,01 | >0,05 |
| | | 5 | 0,83 | <0,01 |
| ЗАОА, % | Церулоплазмін, мг/л | 2 | 0,22 | >0,05 |
| | | 3 | -0,57 | <0,05 |
| | | 4 | -0,03 | >0,05 |
| | | 5 | 0,67 | <0,05 |
| ЗАОА, % | SH-групи, ммоль/л | 2 | 0,49 | >0,05 |
| | | 3 | 0,70 | <0,05 |
| | | 4 | 0,76 | <0,01 |
| | | 5 | 0,80 | <0,01 |

Враховуючи виявлені нами односпрямовані зміни SH-груп та ЗАОА, можна стверджувати про наявність неферментного характеру антиоксидного захисту. Підвищена індуцибельність ферментів має невелике значення у загальному протиокисному процесі в перші години ГУЛ. Тому в цей період доцільніше визначати ЗАОА, яка вказує на стан захисних механізмів

організму. Проведений кореляційний аналіз показав прямий середньої сили взаємозв'язок між ЗАОА та показниками системи антиоксидного захисту в крові, що говорить про зниження антиоксидної системи організму і активацію вільнорадикальних процесів.

При аналізі величини інтегрального індексу Φ , який характеризує співвідношення про- та антиоксидних потенцій крові [376], встановлено, що в 3-ій дослідній групі мало місце його зростання ($p < 0,001$) у гомогенаті легень на 48,8 % з ($306,94 \pm 6,21$) проти даних контролю ($206,22 \pm 13,57$), що свідчить про напруження антиоксидного захисту на місцевому рівні. У крові спостерігалось поступове зниження інтегрального індексу Φ протягом періоду спостереження, причому статистично значима відмінність виявлена у 3-ій, 4-ій і 5-ій групах, що мала спільні риси з отриманими результатами ЗАОА.

Отримані результати свідчать про те, що на тлі оксидативного стресу (підвищення рівня продуктів ПОБ та ПОЛ) відбувається активація антиоксидної системи і за умов її виснаження та/або недостатності збільшується ризик оксидантного ушкодження. Основними чинниками, які активують ферментну й неферментну ланки антиоксидантної системи, є активація процесів окиснювальної модифікації білків та процесів ліпопероксидації. Активація антиоксидного захисту в перші години після ураження носить компенсаторний характер, що реалізується шляхом зростання активності супероксиддисмутази ($p < 0,01$), проте цей механізм адаптації виснажується через 12 год експерименту.

3.7 Кореляційний аналіз показників вільнорадикального окиснення, нітроксидергічних механізмів та системи антиоксидного захисту в патогенезі гострого ураження легень

З метою узагальнення отриманих результатів, які свідчать про розвиток оксидативного стресу при експериментальному ГУЛ, модельованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, нами був проведений

кореляційний аналіз показників вільнорадикального окиснення, нітросидергічних механізмів та системи антиоксидного захисту в патогенезі ГУЛ.

Під дією певного етіологічного чинника, у нашому випадку хлоридної кислоти, фагоцити (макрофаги, нейтрофіли) починають генерувати АФК. У випадку інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення починається пошкодження білків, ліпідів і нуклеїнових кислот власних тканин організму. Наростання продукції АФК стримується завдяки функціонуванню антиоксидної системи захисту організму, причому в нормі існує баланс АФК / антиоксиданти з переважанням останніх [377, 378].

Нами було проведено кореляційний аналіз про- та антиоксидної системи в крові та гомогенаті легень у щурів за умови ГУЛ (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Кореляційні зв'язки між показниками ПОЛ та антиоксидного захисту в гомогенаті легень при експериментальному гострому ураженні легень

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|--------------------------------|-------------------|----------------|--------------------------------|---|
| гомогенат легень | | | | |
| ТБК-активні продукти, ммоль/кг | СОД, ум. од. | 2 | 0,81 | <0,01 |
| | | 3 | 0,80 | <0,01 |
| | | 4 | 0,43 | >0,05 |
| | | 5 | 0,28 | >0,05 |
| ТБК-активні продукти | Каталаза, мкат/кг | 2 | 0,64 | <0,05 |
| | | 3 | 0,83 | <0,01 |
| | | 4 | 0,51 | >0,05 |
| | | 5 | 0,35 | >0,05 |

Встановлено, що в 2-ій і 3-ій дослідних групах для зменшення токсичності продуктів ПОЛ активізується система антиоксидного захисту, досягаючи максимального напруження через 6 год спостереження.

У наступних дослідних групах втрачається взаємозв'язок між даними показниками та порушується баланс у бік переважання вільнорадикальних процесів.

Проведений кореляційний аналіз між показниками в крові виявив середній негативний кореляційний зв'язок між ТБК-активними продуктами та ЗАОА у 3-ій, 4-ій і 5-ій групах спостереження ($r = (-0,62)-(-0,68)-(-0,74)$; $p < 0,05$), що вказує на тісні механізми про- та антиоксидної системи організму.

Отже, при експериментальному ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, відмічається інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення, що проявляється достовірним підвищенням рівня ТБК-активних продуктів, який тісно пов'язаний з ферментами антиоксидного захисту в легенях та ЗАОА в крові.

Важливим є також визначення ролі ОМБ у патогенезі ГУЛ. Для цього було досліджено взаємозв'язок альдегідо-кетоніохідних нейтрального характеру з ТБК-активними продуктами як показником ПОЛ та СОД – ферментом системи антиоксидантного захисту. Кореляційний аналіз показав прямий зв'язок середньої сили модифікованих білкових молекул нейтрального характеру з ТБК-активними продуктами ПОЛ у 4-ій і 5-ій групах, а також кореляцію ОМБ з СОД (позитивний зв'язок середньої сили) у 2-ій і 3-ій групах як в крові, так і в гомогенаті легень (табл. 3.10).

При співставленні коефіцієнтів кореляції між дослідженими показниками встановлено, що ОМБ відображає взаємозв'язок між складовими окисної рівноваги на ранніх етапах ГУЛ. Ймовірно, що в перші години захворювання, модифіковані білкові молекули проявляють антиоксидні властивості, сприяючи відновленню окисного потенціалу клітини за рахунок активації СОД, чим обмежують вільнорадикальні процеси. Проте через 12 год експерименту відбувається виснаження резервно-адаптаційних можливостей організму і ОМБ в 4-ій і 5-ій експериментальних групах стають маркерами окиснювальних пошкоджень

тканин. Відповідно активація ОМБ, яка стимулює ПОЛ, є додатковим джерелом вільних радикалів, інактивує антиоксидантні ферменти та сприяє поглибленню вільнорадикального окиснення.

Таблиця 3.10

Кореляційні зв'язки між рівнем ОМБ нейтрального характеру, ТБК-активними продуктами та СОД при експериментальному гострому ураженні легень

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|---|--------------------------------|----------------|--------------------------------|---|
| гомогенат легень | | | | |
| ОМБ нейтрального характеру, ммоль/г білка | ТБК-активні продукти, ммоль/кг | 2 | -0,18 | >0,05 |
| | | 3 | -0,14 | >0,05 |
| | | 4 | 0,72 | <0,05 |
| | | 5 | 0,67 | <0,05 |
| ОМБ нейтрального характеру, ммоль/г білка | СОД, ум. од. | 2 | 0,57 | <0,05 |
| | | 3 | 0,66 | <0,05 |
| | | 4 | 0,12 | >0,05 |
| | | 5 | 0,08 | >0,05 |
| кров | | | | |
| ОМБ нейтрального характеру, ммоль/г білка | ТБК-активні продукти, ммоль/л | 2 | -0,12 | >0,05 |
| | | 3 | -0,10 | >0,05 |
| | | 4 | 0,66 | <0,05 |
| | | 5 | 0,71 | <0,05 |
| ОМБ нейтрального характеру, ммоль/г білка | СОД, ум. од. | 2 | 0,57 | <0,05 |
| | | 3 | 0,64 | <0,05 |
| | | 4 | 0,10 | >0,05 |
| | | 5 | 0,04 | >0,05 |

Іншим чинником, який призводить до зрушення рівноваги між процесами інактивації АФК, являється оксид азоту. Проведений кореляційний аналіз показав, що нітрит-аніон та окиснювальна модифікація

білків тісно пов'язані між собою як у крові, так і в гомогенаті легень (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

**Кореляційні зв'язки між рівнем метаболітів оксиду азоту та ОМБ
при експериментальному гострому ураженні легень**

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|----------------------------|--|----------------|--------------------------------|---|
| гомогенат легень | | | | |
| Нітрит-аніон, мкмоль/кг | ОМБ нейтрального характеру, ммоль/г білка | 2 | 0,45 | >0,05 |
| | | 3 | 0,66 | <0,05 |
| | | 4 | 0,59 | <0,05 |
| | | 5 | 0,70 | <0,05 |
| кров | | | | |
| Нітрит-аніон, мкмоль/л | ОМБ нейтрального характеру, ммоль/г білка | 2 | 0,43 | >0,05 |
| | | 3 | 0,69 | <0,05 |
| | | 4 | 0,57 | <0,05 |
| | | 5 | 0,67 | <0,05 |

В крові щурів із модельованим ГУЛ встановлено помірний взаємозв'язок між рівнем метаболітів оксиду азоту та рівнем модифікованих білкових молекул нейтрального характеру. Також виявлено прямий кореляційний зв'язок середньої сили між рівнем нітрит-аніону та ОМБ нейтрального характеру в гомогенаті легень у 3-ій, 4-ій і 5-ій дослідних групах.

Власне, нітрозилування сульфгідрильних центрів у білках є найбільш характерною особливістю модифікуючої дії оксиду азоту та пероксинітриту, наслідком чого є підвищена здатність білків до протеолітичної деградації. На фоні підвищеної протеїназної активності вказані передумови за рахунок вивільнення лізосомальних ферментів (еластази, колагенази та ін.) сприяють процесам руйнування клітин, у тому числі й альвеоло-капілярної мембрани [379].

Враховуючи, що за умов гіпоксії відбувається порушення процесу окисного фосфорилування та дії дихального ланцюга в мітохондріях, слід відмітити можливість зростання АФК, до яких є чутливими білки мембран.

Проведений кореляційний аналіз показав прямий взаємозв'язок середньої сили між рівнем нітрит-аніону та СОД як у крові, так і гомогенаті легень у 2-ій і 3-ій дослідних групах (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Кореляційні зв'язки між рівнем метаболітів оксиду азоту та СОД при експериментальному гострому ураженні легень

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|----------------------------|--------------|----------------|--------------------------------|---|
| гомогенат легень | | | | |
| Нітрит-аніон, мкмоль/кг | СОД, ум. од. | 2 | 0,45 | >0,05 |
| | | 3 | 0,61 | <0,05 |
| | | 4 | -0,24 | >0,05 |
| | | 5 | -0,21 | >0,05 |
| кров | | | | |
| Нітрит-аніон, мкмоль/л | СОД, ум. од. | 2 | 0,43 | >0,05 |
| | | 3 | 0,58 | <0,05 |
| | | 4 | -0,12 | >0,05 |
| | | 5 | -0,15 | >0,05 |

Нами показано, що оксид азоту в 3-ій групі виступає в якості ендogenous антиоксиданта, про що свідчить позитивна кореляція між нітрит-аніоном та СОД у цих групах. Проте в умовах наростання оксидативного стресу цей взаємозв'язок втрачається (див. табл. 3.12), що свідчить про ймовірну трансформацію оксиду азоту і його метаболітів у цитотоксичний пероксинітрит, що проявляє цитотоксичну дію.

Таким чином, зсув метаболізму оксиду азоту в бік утворення пероксинітритів в умовах активації процесів вільнорадикального окиснення

та дефіциту антиоксидантного захисту може слугувати в якості додаткового маркера у потенціюванні розвитку ГУЛ.

Для обґрунтування причин зниження антиоксидантної активності ферментів було проведено порівняльний аналіз взаємозалежності СОД і рН при експериментальному ГУЛ. Встановлено, що рівень СОД позитивно корелював з рівнем рН лише у 5-ій групі ($r=0,43$, $p<0,05$), що пов'язано із порушенням активності ферментів антиоксидантного захисту, а також низьким значенням рН.

Узагальнюючи результати дисертаційного дослідження, що наведені в даному розділі, можна стверджувати наступне:

1. При експериментальному гострому ураженні легень, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, розвивається набряк легень і гострий респіраторний ацидоз, для якого характерні гіперкапнія, низький рівень рН, значне зниження показників насичення крові киснем (напруження кисню) та ефективності оксигенації (альвеоло-артеріальна різниця за киснем).

2. При гострому ураженні легень даного генезу виникають компенсаторні відхилення показників центральної гемодинаміки, які насамперед пов'язані із збільшенням інотропних впливів на серце, що призводить до зростання хвилинного викиду та пульсового кровонаповнення. Наростання дихальної недостатності на 24 год після ураження легень залучає додатковий компенсаторний механізм стабільного пульсового кровонаповнення центральної частини тіла за рахунок збільшення тону артеріальних судин.

3. У процесі розвитку гострого ураження легень активуються процеси вільнорадикального окиснення, що проявляється підвищенням рівня дієнових і трієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів у ранній фазі в тканині легень. У пізніші терміни легеневого пошкодження з'являється

дисбаланс про- антиоксидантної системи у сироватці крові та БАЗ, причому зміни у цих біологічних рідинах відбуваються односпрямовано і співдружно.

4. У перші години ураження легень підвищується рівень ОМБ, які проявляють спочатку антиоксидантні властивості, сприяючи відновленню оксидативного потенціалу клітини за рахунок активації СОД, чим обмежують вільнорадикальні процеси. Проте через 12 год відбувається виснаження резервно-адаптаційних можливостей організму і, відповідно, активація ОМБ на цьому етапі виступає додатковим джерелом вільних радикалів, інактивує антиоксидантні ферменти та сприяє поглибленню вільнорадикального окиснення.

5. Метаболіти оксиду азоту на початкових етапах гострого ураження легень виступають в якості ендogenous антиоксидантів, проте в умовах наростання оксидативного стресу цей взаємозв'язок втрачається, що свідчить про ймовірну трансформацію оксиду азоту і його метаболітів у цитотоксичний пероксинітрит, який проявляє прооксидантну дію. Враховуючи системне та локальне підвищення метаболітів оксиду азоту у щурів із гострим ураженням легень, можна опосередковано стверджувати про розвиток ендотеліальної легеневої дисфункції.

6. На тлі оксидативного стресу відбувається активація ферментної ланки антиоксидантної системи (СОД, каталаза) на початку гострого ураження легень і за умов її виснаження та / або недостатності через 12 год підвищується ризик прооксидантного ушкодження. Підвищена експресія ферментів є компенсаторною реакцією, але має незначну частку у загальному протиокисному процесі в перші години гострого ураження легень. Односпрямовані зміни рівня SH-груп та ЗАОА свідчать також про участь неферментного антиоксидантного захисту при гострому ураженні легень.

Основні положення і висновки, викладені у цьому розділі, опубліковані в наукових працях автора [381-388].

РОЗДІЛ 4

ОСОБЛИВОСТІ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ, КЛІТИННОЇ І ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНКОК ІМУННОЇ СИСТЕМИ, ЦИТОКІНОВОГО СТАТУСУ У ЩУРІВ З ІНДУКОВАНИМ ХЛОРИДНОЮ КИСЛОТОЮ ГОСТРИМ УРАЖЕННЯМ ЛЕГЕНЬ

4.1 Синдром ендогенної інтоксикації за умови аспіраційного ураження легень

Важливою ланкою розвитку і прогресування ГУЛ є гіперпродукція перекисних сполук в умовах зниження антиоксидантних резервів та, як наслідок, дисбаланс утворення та використання продуктів пероксидного окиснення ліпідів [389]. В результаті відбуваються порушення практично на всіх рівнях клітинного метаболізму, які охоплюють зміну фізико-хімічних властивостей мембранних білків і ліпідів, порушення проникності мембран, зменшення електричної стабільності мембран, що проявляється зміною кислотно-лужної рівноваги, імунного статусу, рівня біологічно активних речовин, програмованої смерті клітин [390]. Науковцями досліджено розвиток ендотоксинемії при гострому ураженні легень, що виникає при непрямому їх пошкодженні, зокрема, панкреатиті, сепсисі [391, 392]. При цьому легені є однією з головних мішеней більшості відомих факторів тканинного пошкодження [393].

У ряді досліджень, проведених у хворих із різними патологічними станами, було виявлено підвищення рівня МСМ як у сироватці крові, так і в інших фізіологічних рідинах – сечі, слині та ін., що спонукало нас на думку провести дослідження рівня ендотоксемії при аспіраційному ураженні у бронхоальвеолярному змиві [389, 390].

Вираженість ендотоксикозу визначають за вмістом у крові гідрофільних і гідрофобних продуктів. До гідрофільних компонентів

ендогенної інтоксикації відносяться МСМ, які утворюються внаслідок підвищеного протеолізу і володіють пошкоджуючою дією на організм у зв'язку з високою функціональною активністю [394]

Як видно з даних таблиці 4.1, вміст молекул МСМ/254 (ланцюгові амінокислоти у МСМ та продуктах їх розпаду) у сироватці крові щурів усіх груп спостереження збільшився. Так, через 2 год експерименту даний показник зріс на 15,5 % відносно контролю, через 6 год – на 15,5 % стосовно 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 20,6 % відповідно 3-ої групи і через 24 год – на 14,6 % проти даних 4-ої дослідної групи. Слід зауважити, що вказані цифрові величини статистично достовірно відрізнялись між собою ($p < 0,01$).

Проведені дослідження з визначення вмісту МСМ/280 (ароматичні амінокислоти) показали, що протягом 24 год спостереження їх рівень зростав у всіх групах спостереження ($p < 0,05$) і був найвищим через добу, тобто на 68,2 % стосовно контролю (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Зміни вмісту молекул середньої маси у крові піддослідних груп тварин за умов гострого ураження легень, $M \pm m$

| Показники | I дослідна група, n=12 | II дослідна група, n=12 | III дослідна група, n=12 | IV дослідна група, n=12 | V дослідна група, n=12 |
|-----------------------|--|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|
| МСМ/254, ум. од./л | 366,67± 10,42 | 423,33± 9,39 | 488,33± 8,52 | 589,00± 15,55 | 675,17± 12,38 |
| p | $p_{1-2} < 0,01$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{1-4} < 0,001$, $p_{1-5} < 0,001$, $p_{2-3} < 0,001$, $p_{2-4} < 0,001$, $p_{2-5} < 0,001$, $p_{3-4} < 0,001$, $p_{3-5} < 0,001$, $p_{4-5} < 0,001$. | | | | |
| МСМ/280, ум. од./л | 198,50± 3,36 | 213,50± 4,43 | 258,83± 7,48 | 311,67± 3,17 | 395,17± 13,89 |
| p | $p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{1-4} < 0,001$, $p_{1-5} < 0,001$, $p_{2-3} < 0,001$, $p_{2-4} < 0,001$, $p_{2-5} < 0,001$, $p_{3-4} < 0,001$, $p_{3-5} < 0,001$, $p_{4-5} < 0,001$. | | | | |
| ЕП, % | 43,42±1,24 | 49,85±2,17 | 56,33±1,94 | 63,17±2,26 | 73,02±2,23 |
| p | $p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{1-4} < 0,001$, $p_{1-5} < 0,001$, $p_{2-3} < 0,05$, $p_{2-4} < 0,001$, $p_{2-5} < 0,001$, $p_{3-4} < 0,05$, $p_{3-5} < 0,001$, $p_{4-5} < 0,01$. | | | | |

Примітка. p – вірогідність відмінностей між дослідними групами.

Як видно з даних табл. 4.2, вміст молекул МСМ/254 (ланцюгових амінокислот у МСМ та продуктів їх розпаду) у БАЗ щурів усіх груп спостереження збільшився. Так, через 2 год експерименту даний показник зріс на 12,7 % відносно контролю, через 6 год – на 9,0 % стосовно 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 10,4 % відповідно 3-ої групи і через 24 год – на 11,0 % проти даних 4-ої дослідної групи. Слід зауважити, що вказані цифрові величини статистично достовірно відрізнялись між собою ($p < 0,05$) і протягом доби рівень МСМ/254 зріс у середньому на 50,0 %.

Таблиця 4.2

Динаміка вмісту молекул середньої маси у бронхоальвеолярному змиві піддослідних груп тварин за умови гострого ураження легень, $M \pm m$

| Показники | I дослідна група, n=12 | II дослідна група, n=12 | III дослідна група, n=12 | IV дослідна група, n=12 | V дослідна група, n=12 |
|--------------------|--|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|
| МСМ/254, ум. од./л | 409,00± 16,39 | 460,83± 10,35 | 502,17± 10,46 | 554,17± 13,56 | 614,67± 12,47 |
| p | $p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{1-4} < 0,001$, $p_{1-5} < 0,001$, $p_{2-3} < 0,05$, $p_{2-4} < 0,001$, $p_{2-5} < 0,001$, $p_{3-4} < 0,05$, $p_{3-5} < 0,001$, $p_{4-5} < 0,01$. | | | | |
| МСМ/280, ум. од./л | 245,00± 11,62 | 365,67± 14,18 | 416,33± 11,81 | 464,33± 10,67 | 481,83± 16,07 |
| p | $p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{1-4} < 0,001$, $p_{1-5} < 0,001$, $p_{2-3} < 0,05$, $p_{2-4} < 0,001$, $p_{2-5} < 0,001$, $p_{3-4} < 0,05$, $p_{3-5} < 0,001$, $p_{4-5} < 0,05$. | | | | |

Примітка. p – вірогідність відмінностей між дослідними групами.

Проведені дослідження з визначення вмісту МСМ/280 (ароматичні амінокислоти) показали, що протягом 24 год їх рівень зростав у всіх групах спостереження ($p < 0,05$) і був найвищим через добу, тобто на 105,8 % стосовно контролю.

Порівнюючи отримані дані вмісту МСМ/254 і МСМ/280, можна відмітити односпрямовані зміни МСМ при різних довжинах хвилі у БАЗ, які

характеризуються достовірним зростанням протягом 24 год спостереження, що свідчить про наростання ендогенної інтоксикації.

Було проведено також порівняльний аналіз рівня ендотоксикозу в БАЗ та крові щурів із ГУЛ. Виявлено, що вміст МСМ/254 і МСМ/280 в контрольній групі у БАЗ були значно вищими, ніж у крові ($p < 0,05$), що, ймовірно, пов'язано з підвищеним протеолізом у легенях під впливом факторів зовнішнього середовища. Встановлені у дослідних групах відмінності вмісту МСМ/254 і МСМ/280 у БАЗ стосовно даних у крові вказує на патологічну зміну сурфактантної системи, транскапілярного обміну рідини, розвиток мембранодеструктивних процесів і, як наслідок, підвищення надходження у кровотік токсичних речовин (рис. 4.1).

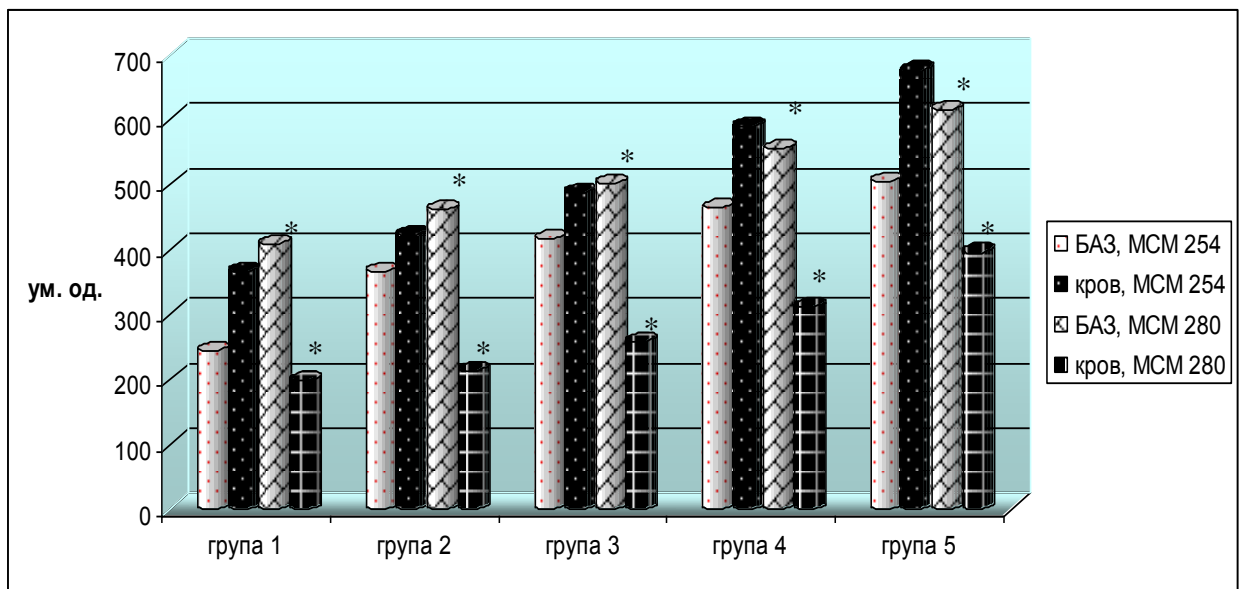


Рис. 4.1. Динаміка МСМ/254 і МСМ/280 у крові й бронхоальвеолярному змиві щурів за умови гострого ураження легень (* – достовірність різниці між показниками в крові та БАЗ у межах групи, $p < 0,05$).

Проведений кореляційний аналіз даних рН крові та МСМ/254 в БАЗ показав наявність негативного взаємозв'язку середньої сили між досліджуваними показниками, який був значимий у 2-ій ($r = -0,76$, $p < 0,01$) та 3-ій ($r = -0,81$, $p < 0,01$) експериментальних групах. Зсув реакції середовища в

кислу сторону за умови ГУЛ відбувається в результаті накопичення недоокиснених продуктів вуглеводного і ліпідного обміну.

Респіраторний ацидоз, що розвинувся, сприяє лабілізації мембран лізосом, виходу в цитоплазму протеаз та протеолітичній деструкції тканини легень, у результаті чого підвищується інтенсивність пероксидного окиснення білків та ліпідів, що є основними чинниками ендогенної інтоксикації. З іншого боку, накопичення в організмі ендотоксинів веде до порушень гемодинаміки, проникності мікросудин, функції дихальних ферментів, а також до метаболічного ацидозу на фоні деструктивних ушкоджень легень.

4.2 Особливості порушень клітинної і гуморальної ланок імунної системи при експериментальному гострому ураженні легень

Дослідження клітинного імунітету показало різницю отриманих результатів у крові та БАЗ. Зокрема, у крові експериментальних тварин з ГУЛ протягом перших 24 год не виявлено різниці між контрольною і дослідними групами. При цьому рівень загальних Т-лімфоцитів (CD3+) у 5-ій групі складав $(42,1 \pm 2,4) \%$ проти $(41,6 \pm 2,1) \%$ у контролі (рис. 4.2).

Натомість у БАЗ були отримані іншого характеру зміни. При цьому встановлено достовірне зростання загальних Т-лімфоцитів, Т-хелперів і Т-супресорів у 4-ій і 5-ій дослідних групах, але співвідношення CD4+/CD8+ практично не відрізнялось від даних контролю у всіх експериментальних групах (табл. 4.3).

Отримані результати підтвердили можливий Т-залежний механізм ініціації ГУЛ. Дослідниками показано, що при інших моделях ГУЛ зменшення секреції ФНП- α макрофагами відбувається при виснаженні CD4+ Т-клітин [395], а також, що Т-клітини збільшують кількість нейтрофілів у БАЗ шляхом продукції ІЛ-17А [396], враховуючи, що лімфоцити можуть сприяти міграції нейтрофілів у легені. Отримані нами результати вказують

на активацію клітинного імунітету на початкових етапах ГУЛ, індукованого інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, проте існує необхідність проведення додаткових досліджень для детального з'ясування механізмів порушення клітинного імунітету при ГУЛ.

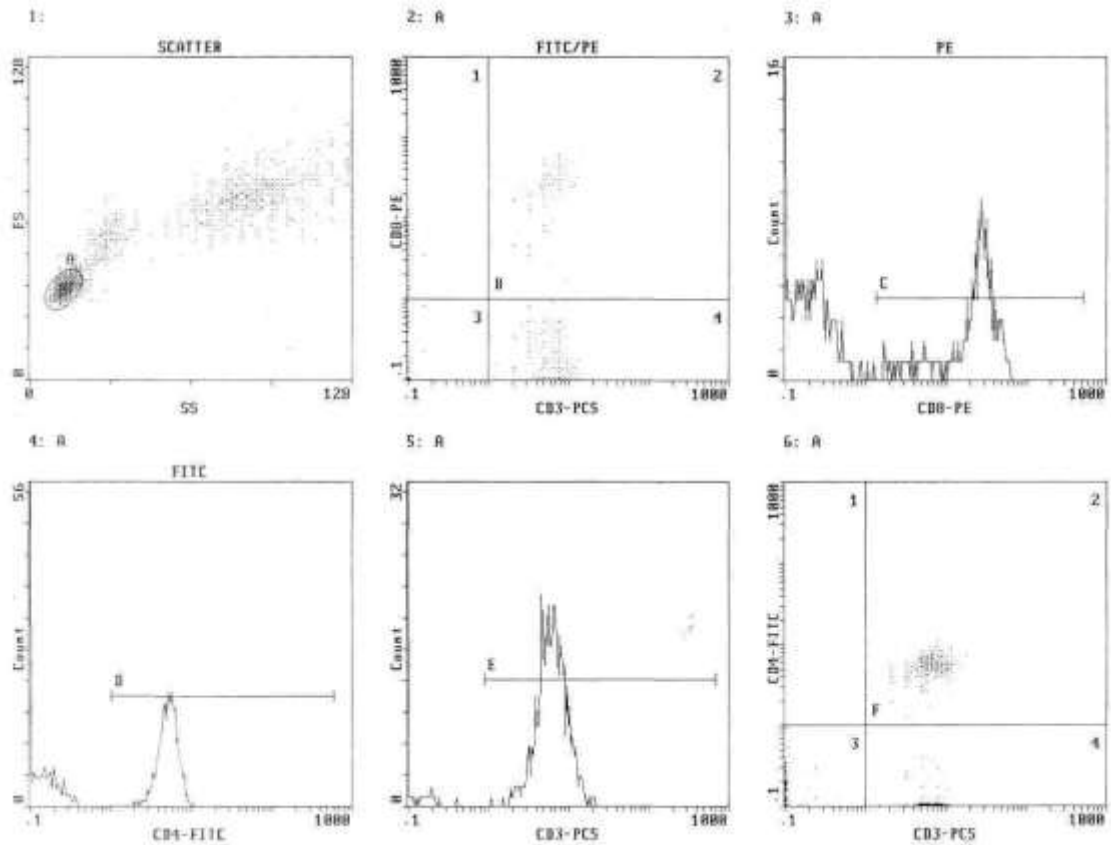


Рис. 4.2. Рівень CD3+, CD4+ та CD8+ у 5-ій дослідній групі в крові експериментальних тварин на тлі гострого ураження легень.

Показники системи гуморального імунітету вивчали у всіх дослідних групах. За даних умов зростання рівня В-лімфоцитів (CD19+) на 11,5 % у 2-ій групі, порівняно з контролем ($p < 0,05$), на 11,3 % у 3-ій групі проти даних 2-ої ($p < 0,01$) та на 20,9 % у 4-ій дослідній групі відповідно до попередньої групи ($p < 0,001$) (табл. 4.3).

У тварин із ГУЛ зміни вмісту Ig M були відсутні протягом 24 год експерименту ($p < 0,05$) (рис. 4.3), що може свідчити про підвищене споживання його в результаті зв'язування з комплементом. Вміст Ig A у тварин з ГУЛ зростав ($p < 0,01$) вже на 2 год експерименту на 65,4 % відносно

даних контролю, а через 6 год рівень даного показника піднімався на 23,7 % проти 2-ої дослідної групи ($p < 0,05$) і вдвічі стосовно даних контрольної групи. Потрібно зауважити, що хоча й вміст Ig A у 4-ій та 5-ій дослідних групах був дещо вищим відносно контролю, проте статистично не відрізнявся від даних попередніх експериментальних груп.

Таблиця 4.3

**Динаміка показників клітинного і гуморального імунітету (%)
в бронхоальвеолярному змиві піддослідних груп тварин
за умови гострого ураження легень, $M \pm m$**

| Показники | 1 група | 2 група | 3 група | 4 група | 5 група |
|-----------|------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| CD3+ | 40,09±0,55 | 40,52±0,50 | 41,55±0,54 | 45,01±0,41* $p_{3-4} < 0,001$ | 48,68±0,32* $p_{4-5} < 0,001$ |
| CD4+ | 24,03±0,66 | 24,30±0,50 | 25,31±0,53 | 27,46±0,42* $p_{3-4} < 0,05$ | 31,30±0,38* $p_{4-5} < 0,001$ |
| CD8+ | 12,48±0,42 | 12,36±0,25 | 12,74±0,39 | 14,03±0,27* $p_{3-4} < 0,05$ | 15,98±0,22* $p_{4-5} < 0,001$ |
| CD4+/CD8+ | 1,93±0,05 | 1,97±0,04 | 2,03±0,07 | 1,96±0,04 | 1,96±0,04 |
| CD19+ | 7,33±0,34 | 8,17±0,14* $p_{1-2} < 0,05$ | 9,09±0,16* $p_{2-3} < 0,01$ | 10,99±0,30* $p_{3-4} < 0,001$ | 11,27±0,31 |

Примітки: * – вірогідність відмінностей між контрольною і дослідними групами, p – вірогідність відмінностей між дослідними групами.

Вміст Ig G у тварин з ГУЛ достовірно зростав через 2 год на 29,7 % відносно даних контролю ($p < 0,01$) і через 6 год – на 24,6 % проти 2-ої дослідної групи ($p < 0,01$). Слід відмітити, що динаміка рівня Ig G була дещо схожа до такої Ig A. Так, хоча вміст Ig G у 4-ій та 5-ій дослідних групах був вищим відносно контролю, проте статистично не відрізнявся від даних 3-ої експериментальної групи.

Однією з важливих фізіологічних функцій імуноглобулінів є нейтралізація антигенів, у тому числі й аутоантигенів, з утворенням ЦІК та

наступною їх елімінацією з організму, яка спрямована на підтримку імунобіологічного гомеостазу. Але за певних умов ЦК можуть фіксуватися у судинній стінці та під базальними мембранами у деяких внутрішніх органах, включаючи й легені, і викликати запальну реакцію [397]. Тому проблемі дослідження ЦК повинна приділятися значна увага, як одній з важливих ланок патогенезу імунного ураження органів та тканин організму.

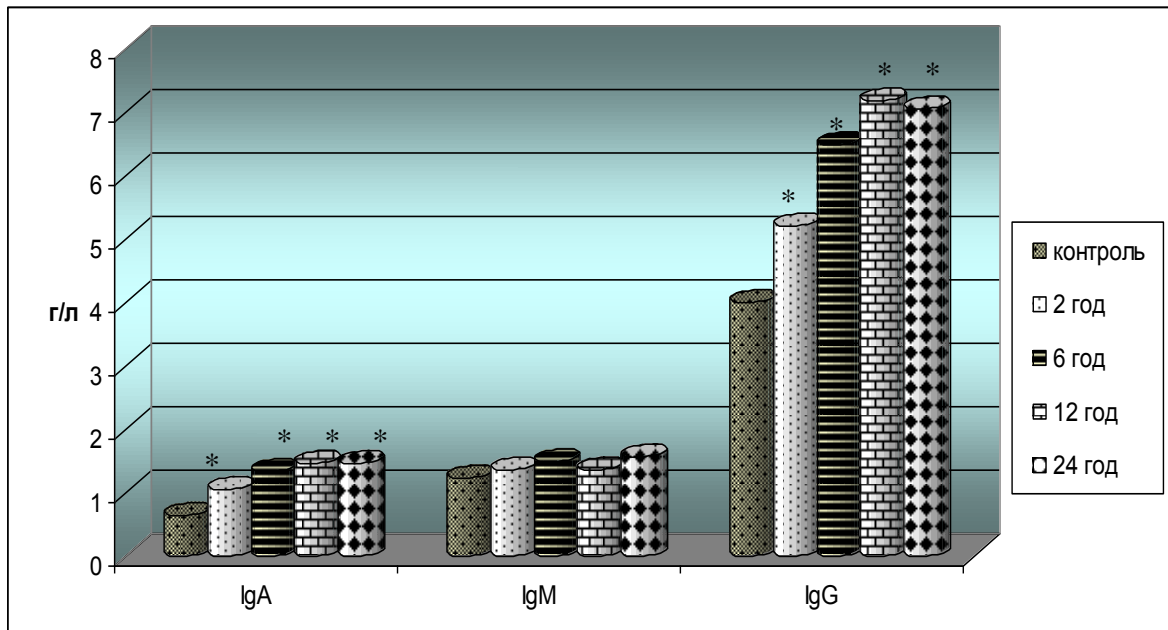


Рис. 4.3. Динаміка показників гуморального імунітету в сироватці крові щурів з гострим ураженням легень.

Примітка: * – достовірність відмінностей між контрольною та дослідними групами ($p < 0,01$).

Через 6 год експерименту рівень ЦК вже становив ($54,98 \pm 1,22$) ум. од., що перевищувало в 1,2 раза результати 2-ої дослідної групи ($p < 0,001$). Через 12 год в експериментальних тварин вміст ЦК продовжував зростати і складав ($61,28 \pm 0,87$) ум. од., тобто на 11,5 % перевищував дані попередньої групи ($p < 0,001$). Зміна досліджуваного показника через 24 год від початку експерименту була більш виражена відносно попереднього терміну спостереження і становила ($67,97 \pm 1,08$) ум. од. ($p < 0,001$) (рис. 4.4).

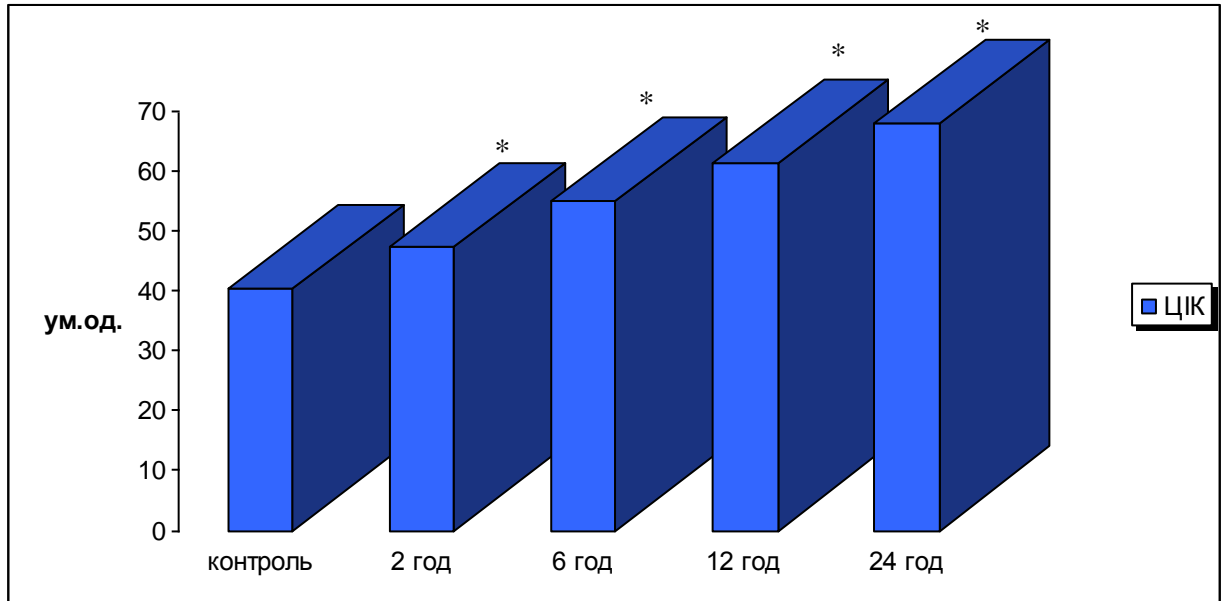


Рис. 4.4. Рівень циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові тварин з гострим ураженням легень.

Примітка: * – достовірність відмінностей між контрольною та дослідними групами ($p < 0,01$).

Встановлені зміни вказують на гіперреактивність В-клітин, а також на порушення механізмів елімінації ЦІК. Рівень імуноглобулінів у сироватці крові щурів відображає реакцію первинних та вторинних лімфоїдних органів на фактори ендогенної інтоксикації. Відомо, що адекватна імунна відповідь базується на балансі клітинно-опосередкованих та гуморальних імунних реакцій, розвиток яких підтримується та регулюється цитокінами. Зміни продукції чи рецепції цитокінів призводять до дисбалансу імунних процесів, зниження імунологічної резистентності.

4.3 Закономірності змін цитокінового спектру у сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві щурів за умови гострого ураження легень

Цитокіни посідають важливе місце серед великої кількості гуморальних медіаторів, що регулюють каскад біохімічних та імунологічних

процесів і є основою запалення. Зміна їх рівня характеризує не тільки переважний напрямок імунної відповіді, яка визначається за активністю різних субпопуляцій Т-лімфоцитів–хелперів (Th1- та Th2-типів клітин), а й асоціюється з активністю та прогресуванням запалення. Гіперреакцію імунної системи можна охарактеризувати завдяки визначенню здатності імунокомпетентних клітин синтезувати цитокіни, котрі беруть участь у запуску імунної відповіді і розвитку запалення.

Цитокіни пріоритетно діють у вогнищі запалення і на території реагуючих лімфоїдних органів, тому виникає необхідність дослідження інтерлейкінів у БАЗ та крові для вивчення локального та системного характеру запалення.

Проведене нами дослідження засвідчило, що вже в перші 2 год ГУЛ рівень ІЛ-1 β зростав на 74,2 % проти контролю, через 6 год – на 63,5 % відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 13,3 % проти результатів 3-ої дослідної групи і на 24 год досліді – на 18,9 % порівняно з попередньої групою. Натомість через добу концентрація ІЛ-1 β збільшилась у 2,6 раза відповідно до 1-ої дослідної групи (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Рівень ІЛ-1 β (пг/мл) у сироватці крові щурів при модельованому гострому ураженні легень, (M \pm m)

| Дослід I | Дослід II | Дослід III | Дослід IV | Дослід V |
|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 1,59 \pm 0,11 | 2,77 \pm 0,22* | 4,53 \pm 0,16* | 5,13 \pm 0,16* | 6,10 \pm 0,20* |
| | | p<0,001 | p<0,05 | p<0,01 |

Примітки. * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами (p<0,001), p – достовірність відмінностей між дослідними групами.

Аналіз отриманих результатів показав, що в 2-ій дослідній групі рівень ІЛ-6 підвищився на 82,5 % проти контролю, через 6 год – на 28,7 % відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 35,1 % проти результатів 3-ої

дослідної групи і на 24 год досліді – на 47,5 % порівняно з попередньої групою. Разом з тим встановлено, що через добу концентрація ІЛ-6 достовірно збільшилась у 4,7 раза відносно 1-ої дослідної групи (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

Рівень ІЛ-6 (пг/мл) у сироватці крові щурів при гострому ураженні легень (M±m)

| Дослід I | Дослід II | Дослід III | Дослід IV | Дослід V |
|-----------|------------|------------|------------|------------|
| 0,63±0,05 | 1,15±0,08* | 1,48±0,06* | 2,00±0,08* | 2,95±0,17* |
| | | p<0,01 | p<0,001 | p<0,001 |

Примітки. * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами (p<0,001), p – достовірність відмінностей між дослідними групами.

У прозапальному каскаді ІЛ-6 знаходиться більш дистально. Клітинами-продуцентами ІЛ-6 є макрофаги, ендотеліоцити, Т-клітини. Системні ефекти ІЛ-6 є менш вираженими, ніж локальні, оскільки надмірне його надходження сприяє пошкодженню тканин.

При аналізі отриманих результатів рівня ІЛ-8 відмічено, що у крові експериментальних тварин 2-ої групи з ГУЛ, індукованим інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, спостерігалось зростання цього цитокіну на 81,0 % порівняно з даними контролю, причому даний показник практично не змінювався впродовж 6 год досліді. Звертає увагу те, що в 4-ій дослідній групі концентрація ІЛ-8 зменшилась на 19,8 % порівняно з 3-ою групою, а в 5-ій була вірогідно менша на 12,3 % відносно отриманих результатів 4-ої групи (табл. 4.6).

Разом з тим концентрація ІЛ-8 зросла на 27,2 % протягом часу спостереження, але порівнюючи результати 2-ої та 5-ої дослідних груп, виявилось достовірне зменшення даного показника на 42,3 %.

Таблиця 4.6

Рівень ІЛ-8 (пг/мл) у сироватці крові щурів при гострому ураженні легень, (M±m)

| Дослід I | Дослід II | Дослід III | Дослід IV | Дослід V |
|----------|-------------|-------------|------------|------------|
| 6,1±0,20 | 11,04±0,31* | 11,03±0,32* | 8,85±0,48* | 7,76±0,48* |
| | | p>0,05 | p<0,001 | p>0,05 |

Примітки. * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами (p<0,01), p – достовірність відмінностей між дослідними групами.

ІЛ-10 також відіграє важливу біологічну роль в організмі. Це є протизапальний цитокін, який пригнічує продукцію активованими моноцитами ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8, фактору некрозу пухлин α , супероксидних та нітроксидних радикалів. Встановлено, що при HCl-індукованому ГУЛ через 2 год концентрація ІЛ-10 у сироватці крові підвищилася на 43,2 % відповідно до контролю, через 6 год – на 41,3 % відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 22,1 % проти результатів 3-ої дослідної групи, проте на 24 год досліді даний показник зменшився на 16,3 % (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

Рівень ІЛ-10 (пг/мл) у сироватці крові щурів при гострому ураженні легень, (M±m)

| Дослід I | Дослід II | Дослід III | Дослід IV | Дослід V |
|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 9,51±0,45 | 13,62±0,57* | 19,25±0,55* | 23,51±0,63* | 19,68±0,72* |
| | | p<0,001 | p<0,001 | p<0,01 |

Примітки. * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами (p<0,001), p – достовірність відмінностей між дослідними групами.

Для глибшого уявлення про патогенез ГУЛ, було досліджено зв'язок ІЛ-8, який є важливою ланкою цитокинової мультисистеми, необхідної для здійснення міжклітинної взаємодії – основи клітинного гомеостазу [398], з ІЛ-1 β . Відомо, що ІЛ-8 має хемоатрактантну активність і може зумовлювати активацію і дегрануляцію нейтрофільних гранулоцитів. Даний ІЛ продукується різними клітинами, у тому числі і нейтрофілами під впливом інших цитокинів, зокрема, ІЛ-1 β . Проведений кореляційний аналіз даних ІЛ-1 β та ІЛ-8 у першу фазу НСІ-індукованого ГУЛ (2-га дослідна група) показав значимий сильний прямий зв'язок $r=0,78$ ($p<0,01$), що підтверджує можливий вплив ІЛ-1 β на продукцію ІЛ-8. Підвищений рівень даного ІЛ у сироватці крові при ГУЛ відіграє певну роль у міграції нейтрофілів у легені, зумовлює інтегрин-опосередковану адгезію нейтрофілів до ендотелію, стимулює полімеризацію актину нейтрофілів [399].

Отже, при ГУЛ, модельованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, спостерігається односпрямована зміна прозапальних ІЛ-1 β та ІЛ-8 у бік поглиблення реакцій системного запалення внаслідок активації і дегрануляції нейтрофільних гранулоцитів у крові.

Проведене дослідження показало активацію продукції протизапального ІЛ-10 в перші 12 год експерименту, що може бути обумовлено викидом катехоламінів та глюкокортикоїдів у відповідь на стрес, індукований екзогенними чи ендогенними факторами, зокрема, введенням хлоридної кислоти. До кінця першої доби моделювання ГУЛ відмічалось виснаження протизапальних властивостей, що проявляється зниженням концентрації ІЛ-10.

У патогенезі захворювань органів дихання важливим є дослідження цитокинового статусу не тільки на системному рівні, але й на місцевому, оскільки це дозволить виявити більш глибокі механізми розвитку ГУЛ. Встановлено, що рівні альвеолярних та системних цитокинів різко змінювались (у межах від 1 до 2 годин) у відповідь на альвеолярне пошкодження, причому як у системному, так і регіонарному кровотоці [400].

На підставі даних досліджень було висунуто припущення, що легені виступають важливим органом продукції цитокінів, а також джерелом їх надходження до системного кровотоку.

Проведене нами дослідження концентрації ІЛ-1 β у БАЗ вказало на те, що в перші 2 год ГУЛ вона зростала на 12,6 %, тоді як через 6 год виявлялось підвищення на 13,9 % відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 41,2 % проти результатів 3-ої дослідної групи і на 24 год досліді – на 13,9 % порівняно з попередньої групою. В подальшому, через добу спостереження, концентрація ІЛ-1 β у БАЗ достовірно збільшилась практично вдвічі, причому відбувалось поступове зростання даного цитокіну впродовж 24 год (табл. 4.8).

Таблиця 4.8

Рівень ІЛ-1 β (пг/мл) у БАЗ щурів при гострому ураженні легень, (M \pm m)

| Дослід I | Дослід II | Дослід III | Дослід IV | Дослід V |
|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| 2,69 \pm 0,16 | 3,03 \pm 0,11 | 3,45 \pm 0,12* | 4,87 \pm 0,12* | 5,55 \pm 0,18* |
| | | p<0,05 | p<0,001 | p<0,01 |

Примітки. * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами (p<0,01), p – достовірність відмінностей між дослідними групами.

ІЛ-6 – один з білків міжклітинної взаємодії, який секретується при запаленні та має вагомий вплив на органи і системи організму. Аналіз отриманих даних показав, що в перші 2 год ГУЛ рівень ІЛ-6 у БАЗ статистично значимо підвищився на 63,5 % порівняно з контролем (p<0,01). Через 6 год встановлено значне підвищення концентрації ІЛ-6 на 44,6 % відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 28,2 % проти результатів 3-ої дослідної групи і на 24 год досліді – на 30,2 % порівняно з попередньою групою. Через добу концентрація ІЛ-6 достовірно збільшилась практично вчетверо, причому відбувалось поступове зростання даного цитокіну впродовж 24 год (табл. 4.9).

Таблиця 4.9.

Рівень ІЛ-6 (пг/мл) у БАЗ щурів при гострому ураженні легень (M±m)

| Дослід I | Дослід II | Дослід III | Дослід IV | Дослід V |
|-----------|------------|------------|------------|------------|
| 0,96±0,07 | 1,57±0,11* | 2,27±0,13* | 2,91±0,09* | 3,79±0,11* |
| | | p<0,01 | p<0,01 | p<0,001 |

Примітки. * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами (p<0,01), p – достовірність відмінностей між дослідними групами.

Провівши оцінку отриманих результатів концентрації ІЛ-8, слід відмітити, що протягом даного часу спостереження експериментальних тварин 2-ої групи з ГУЛ у БАЗ відбулось значне зростання даного цитокіну порівнюючи з контролем на 251,6 %, 3-ої групи – на 12,9 % відносно даних через 2 год, 4-ої дослідної групи – на 9,9 % проти результатів через 6 год і на 24 год досліді – на 8,5 % порівняно з попередньою групою (табл. 4.10).

Таблиця 4.10

Рівень ІЛ-8 (пг/мл) у БАЗ щурів при гострому ураженні легень, (M±m)

| Дослід I | Дослід II | Дослід III | Дослід IV | Дослід V |
|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 8,28±0,22 | 29,11±0,61* | 32,87±0,69* | 36,12±1,05* | 39,18±0,83* |
| | | p<0,01 | p<0,05 | p<0,05 |

Примітки. * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами (p<0,001), p – достовірність відмінностей між дослідними групами.

Проведене дослідження показало, що рівень ІЛ-8 протягом часу спостереження збільшився у 4,7 раза, причому прогресуюче зростання даного показника до максимальних величин відбувалося на 2 год.

Було встановлено, що при HCl-індукованому ГУЛ через 2 год концентрація ІЛ-10 у БАЗ достовірно зростала на 54,5 %, через 6 год – на 21,8 % відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 17,9 % проти

результатів 3-ої дослідної групи, причому на 24 год досліду даний показник зменшився на 24,7 % стосовно попередньої групи (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Рівень ІЛ-10 (пг/мл) у БАЗ щурів при гострому ураженні легень ($M \pm m$)

| Дослід I | Дослід II | Дослід III | Дослід IV | Дослід V |
|-----------|------------|------------|------------|------------|
| 7,31±0,45 | 11,29±0,42 | 13,75±0,60 | 16,21±0,43 | 12,21±0,62 |
| | | p<0,01 | p<0,01 | p<0,001 |

Примітки. * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідними групами (p<0,001), p – достовірність відмінностей між дослідними групами.

Результати дослідження показали, що протягом перших 12-ти годин відбувається активація протизапального ІЛ-10, що сповільнює надмірну продукцію прозапальних цитокінів, знижує продукцію супероксид-аніонів, проте даний механізм виснажується вже через добу спостереження.

Відомо, що в процесі дегрануляції нейтрофілів у позаклітинний простір з первинних гранул лейкоцитів швидко вивільняється нейтрофільна еластаза, яка забезпечує гідроліз таких цитокінів як ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8 та ряд інших, тим самим зменшуючи прозапальну дію [401, 402]. Це змусило нас дослідити взаємозв'язок між кількістю НГ і рівнем досліджуваних прозапальних ІЛ (табл. 4.12).

Провівши порівняльний аналіз кореляційних зв'язків між рівнем ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8 та кількістю нейтрофільних гранулоцитів у БАЗ встановлено, що при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, вже у першу його фазу (перші 2 год експерименту) наявний достовірний позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між концентрацією досліджуваних цитокінів (p<0,05), який набирає сили в 3-ій та 4-ій дослідних групах (p<0,01). Між рівнем ІЛ-1 β та кількістю нейтрофілів встановлено позитивний корелятивний зв'язок середньої сили лише в 4-ій експериментальній групі, тоді як між концентрацією ІЛ-8 і кількістю

гранулоцитів діагностовано позитивний корелятивний зв'язок протягом всього часу спостереження (табл. 4.12).

Таблиця 4.12

Кореляційні зв'язки між рівнем ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8 і кількістю нейтрофільних гранулоцитів у бронхоальвеолярному змиві при гострому аспіраційному ураженні легень

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|----------------------|---|----------------|--------------------------------|---|
| ІЛ-1 β , пг/мл | ІЛ-8, пг/мл | 2 | 0,68 | <0,05 |
| | | 3 | 0,77 | <0,01 |
| | | 4 | 0,85 | <0,01 |
| | | 5 | 0,85 | <0,01 |
| ІЛ-6, пг/мл | ІЛ-8, пг/мл | 2 | 0,57 | <0,05 |
| | | 3 | 0,61 | <0,05 |
| | | 4 | 0,66 | <0,05 |
| | | 5 | 0,62 | <0,05 |
| ІЛ-1 β , пг/мл | Кількість нейтрофільних гранулоцитів, % | 2 | 0,13 | >0,05 |
| | | 3 | 0,51 | >0,05 |
| | | 4 | 0,62 | <0,05 |
| | | 5 | 0,50 | >0,05 |
| ІЛ-8, пг/мл | Кількість нейтрофільних гранулоцитів, % | 2 | 0,63 | <0,05 |
| | | 3 | 0,78 | <0,01 |
| | | 4 | 0,78 | <0,01 |
| | | 5 | 0,62 | <0,05 |

4.4 Встановлення кореляційних зв'язків між показниками ендогенної інтоксикації, гуморального імунітету, цитокінового статусу та системи про-антиоксидного захисту у щурів з гострим ураженням легень

Відомо, що в розвитку ендотоксикозу при запальних захворюваннях легень важливу роль можуть відігравати продукти деструкції легеневої тканини. Встановлені нами порушення системи про- і антиоксидного захисту в умовах ГУЛ вказують на їх роль у патогенезі даного синдрому, проте важливим у прогресуванні ГУЛ є також розвиток поліорганної недостатності у зв'язку з токсичною дією продуктів протеолізу і ПОЛ на організм у цілому через виникнення ендотоксемії.

Проведений кореляційний аналіз даних показав, що рівень МСМ/254 у крові прямо корелював з показниками ПОЛ (ДК, ТК, ТБК-активні продукти) у 3-ій, 4-ій та 5-ій дослідних групах. Щодо зв'язку показника ендогенної інтоксикації з системою антиоксидантного захисту, встановлено обернений середній зв'язок із СОД у 5-ій групі та обернений зв'язок середньої сили із ЗАОА у 4-ій і 5-ій групах (табл. 4.13).

Таблиця 4.13

Кореляційні зв'язки вмісту молекул середньої маси в крові щурів з рівнем показників про- та антиоксидантного захисту при гострому ураженні легень

| Дослідна група | ДК, ммоль/л | ТК, ммоль/л | ТБК-активні продукти, ммоль/л | СОД, ум.од. | ЗАОА, % |
|----------------|--------------|--------------|-------------------------------|---------------|---------------|
| 2 | $r = 0,21$ | $r = 0,27$ | $r = 0,31$ | $r = 0,05$ | $r = -0,11$ |
| 3 | $r = 0,45$ | $r = 0,58^*$ | $r = 0,57^*$ | $r = 0,32$ | $r = -0,47$ |
| 4 | $r = 0,57^*$ | $r = 0,61^*$ | $r = 0,74^*$ | $r = -0,02$ | $r = -0,58^*$ |
| 5 | $r = 0,66^*$ | $r = 0,61^*$ | $r = 0,81^*$ | $r = -0,59^*$ | $r = -0,61^*$ |

Примітка: * – достовірність відмінностей коефіцієнтів кореляції ($p < 0,05$).

Отримані результати вказують на важливу роль у розвитку ендогенної інтоксикації продуктів деструкції легеневої тканини, зокрема пероксидного окиснення білків та ліпідів, що зумовлює генералізацію процесу та розвиток поліорганної дисфункції. Про розвиток ендотоксикозу при експериментальному ГУЛ свідчить утворення ДК, ТК та ТБК-активних продуктів та зниження ЗАОА.

Відоме значення оксидативного стресу як важливого фактора розвитку запальних і аутоімунних процесів, у тому числі ГУЛ [403, 404], проте залишається недостатньо визначеним взаємозв'язок підвищеної активності процесів ПОЛ і пригнічення антиоксидного захисту із гіперпродукцією прозапальних цитокінів у патогенезі даного синдрому. В даному співвідношенні встановлена пряма залежність середньої сили між концентрацією ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 та вмістом ТБК-активних продуктів, що свідчить про взаємозв'язок між активацією процесів вільнорадикального окиснення та розвитком запального процесу у патогенезі ГУЛ (табл. 4.14).

Також нами було досліджено роль цитокінів в ініціації ендотеліальної дисфункції при розвитку ГУЛ. При цьому встановлено позитивний зв'язок у БАЗ між рівнем ІЛ-6 та вмістом метаболітів оксиду азоту у 3-ій ($r=0,58$; $p<0,05$), 4-ій ($r=0,62$; $p<0,05$) та 5-ій ($r=0,61$; $p<0,05$) дослідних групах, концентрацією ІЛ-1 β та вмістом нітрит-аніону у 3-ій ($r=0,57$; $p<0,05$), 4-ій ($r=0,61$; $p<0,05$) та 5-ій ($r=0,59$; $p<0,05$) експериментальних групах, а також між рівнем ІЛ-8 та вмістом в БАЗ метаболітів оксиду азоту у 2-ій ($r=0,62$; $p<0,05$) 3-ій ($r=0,71$; $p<0,05$), 4-ій ($r=0,72$; $p<0,05$) та 5-ій ($r=0,69$; $p<0,05$) дослідних групах, що свідчить про опосередковані пошкоджуючі наслідки.

Підвищення продукції оксиду азоту, який розглядають в якості біологічного маркера активності запального процесу [405] при критичних станах, пов'язано з активацією продукції прозапальних цитокінів та акумуляцією їх у легенях, що ініціює синдром неспецифічного ураження легень. Це свідчить про те, що ендотеліоцити легневих капілярів є

важливим джерелом цитокінів ІЛ-6, ІЛ-8 при розвитку гострого пошкодження легень.

Таблиця 4.14

Кореляційні зв'язки між рівнем ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8 і ТБК-активними продуктами у бронхоальвеолярному змиві при гострому аспіраційному ураженні легень

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|----------------------|-------------------------------|----------------|--------------------------------|---|
| ІЛ-1 β , пг/мл | ТБК-активні продукти, ммоль/л | 2 | 0,47 | >0,05 |
| | | 3 | 0,61 | <0,05 |
| | | 4 | 0,59 | <0,05 |
| | | 5 | 0,64 | <0,05 |
| ІЛ-6, пг/мл | ТБК-активні продукти, ммоль/л | 2 | 0,23 | >0,05 |
| | | 3 | 0,61 | <0,05 |
| | | 4 | 0,66 | <0,05 |
| | | 5 | 0,62 | <0,05 |
| ІЛ-8, пг/мл | ТБК-активні продукти, ммоль/л | 2 | 0,15 | >0,05 |
| | | 3 | 0,61 | <0,05 |
| | | 4 | 0,71 | <0,05 |
| | | 5 | 0,75 | <0,01 |

Узагальнюючи результати дисертаційного дослідження, що наведені в даному розділі, можна зробити наступні висновки:

1. За умови гострого ураження легень розвивається респіраторний ацидоз, що може сприяти лабілізації мембран лізосом, виходу у цитоплазму протеаз та протеолітичній деструкції тканини легень, підвищується інтенсивність пероксидного окиснення білків та ліпідів, що є основними чинниками ендогенної інтоксикації.

2. При гострому ураженні легень активується клітинна і гуморальна ланки імунної системи, що проявляється статистично значимим зростанням загальних Т-лімфоцитів, Т-хелперів і Т-супресорів через 12 год ($p < 0,001$), В-лімфоцитів ($p < 0,05$) і концентрації Ig A і G ($p < 0,01$) вже через 2 год експерименту. Порушення механізмів елімінації ЦК може бути непрямою ознакою активації комплементу, який веде до пошкодження тканин.

3. За гострого хлоридного ураження легень спостерігається статистично значима взаємозв'язана гіперпродукція прозапальних ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 у бронхоальвеолярному змиві та сироватці крові, що може відігравати важливу роль в ініціації та прогресуванні даної патології внаслідок активації й дегрануляції нейтрофілів та запуску метаболічних каскадних реакцій, при цьому ІЛ-8 позитивно корелює з кількістю гранулоцитів. Протизапальний ІЛ-10 сповільнює надмірну продукцію прозапальних цитокінів у перші 12 год, проте даний механізм виснажується через 24 год спостереження.

5. Встановлена пряма залежність між активацією процесів вільнорадикального окиснення, пригніченням антиоксидного захисту та ініціацією запального процесу у патогенезі гострого ураження легень. Доведена важлива роль продуктів деструкції легеневої тканини, зокрема, пероксидного окиснення білків та ліпідів у розвитку ендотоксемії, що зумовлює генералізацію процесу та розвиток поліорганної дисфункції.

Основні положення і висновки, викладені в цьому розділі, опубліковані в наукових працях автора [406-413].

РОЗДІЛ 5

РОЛЬ НЕКРОЗО-АПОПТИЧНИХ МЕХАНІЗМІВ У РЕАКЦІЇ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ І БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО ЗМИВУ В РОЗВИТКУ АСПІРАЦІЙНОГО ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ ЛЕГЕНЬ

5.1 Патогенетична роль нейтрофільних гранулоцитів при експериментальному гострому ураженні легень

Вважається, що основою синдрому ГУЛ є неспецифічна запальна реакція на рівні мікросудин легень з порушенням легеневого гомеостазу, що ініціюється активацією НГ крові, що частково вивчено в клінічних та експериментальних дослідженнях [6, 72]. В умовах нейтрофільної активації легені є первинним органом ураження внаслідок розвинутого русла мікроциркуляції, де при гіпоксії відбувається секвестрація активованих нейтрофілів. Накопичення нейтрофілів та активація макрофагів призводить до виділення як прозапальних, так і протизапальних цитокінів. Патогенетичний баланс між даними цитокінами має вирішальне значення у визначенні результату хвороби.

Як свідчать проведені нами дослідження (табл. 5.1) у 2-ій дослідній групі (перші 2 год пошкодження) ГУЛ у крові експериментальних тварин відбулось зниження рівня загальних лейкоцитів у 1,7 раза, при цьому НГ перевищували на 29,0 % показники контрольної групи ($4,8 \pm 0,1 \cdot 10^9/\text{л}$ порівняно з нормою $3,7 \pm 0,2 \cdot 10^9/\text{л}$). У 3-ій дослідній групі відмічено зниження числа загальних лейкоцитів у 1,4 раза при відносному зростанні відсотка НГ, хоча їх абсолютна кількість знижувалась і вірогідно не відрізнялась від результатів контролю. У 4-ій групі загальна кількість лейкоцитів залишалася нижчою норми, проте вона була вищою порівняно з попередньою групою в 1,2 раза ($p < 0,001$). На цьому фоні продовжувалась

зменшуватися відносна кількість НГ при статистично не значимій зміні їх абсолютної кількості. Через добу спостереження продовжувалось зростання загальної кількості лейкоцитів при відносному та абсолютному зниженні НГ. Так, у 5-ій дослідній групі загальна кількість лейкоцитів зросла в 1,2 раза стосовно 4-ої групи, проте залишалась низькою відносно контролю.

Таблиця 5.1

**Загальна кількість лейкоцитів і вміст нейтрофільних гранулоцитів
у периферичній крові експериментальних тварин з гострим
ураженням легень (M±m)**

| Показник | Група I (n=12) | Група II (n=12) | Група III (n=12) | Група IV (n=12) | Група V (n=12) |
|----------------------------------|-------------------|--------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Лейкоцити, 10 ⁹ /л | 12,4±0,3 | 7,6±0,1*** | 5,4±0,2*** p<0,001 | 6,1±0,1*** p<0,001 | 7,4±0,1*** p<0,001 |
| НГ, % | 30,1±0,6 | 63,3±0,6*** | 70,9±0,6*** p<0,001 | 65,1±1,0*** p<0,001 | 49,4±1,3*** p<0,001 |
| НГ, 10 ⁹ /л | 3,8±0,1 | 4,8±0,1*** | 3,8±0,1 p<0,001 | 4,0±0,1 | 3,6±0,1*** p<0,01 |

Примітки: *** – достовірність відмінностей між контрольною і дослідною групою в даний термін обстеження; p – достовірність відмінностей між дослідними групами на 2, 6, 12 і 24 год після моделювання гострого ураження легень.

У той же час, у БАЗ через 2 год після моделювання ГУЛ відмічався як виражений лейкоцитоз (загальний рівень лейкоцитів зріс у 1,9 раза), так і нейтрофільний гранулоцитоз – $0,6\pm 0,1\cdot 10^9/\text{л}$ порівняно з контрольною групою $0,005\pm 0,001\cdot 10^9/\text{л}$ (табл. 5.2).

ГУЛ, яке тривало 6 год, зумовило прогресування процесів, що виникли в перші години легеневого пошкодження хлоридною кислотою. Ця фаза проявлялась гострою запальною відповіддю і була опосередкована

нейтрофілами. При цьому у крові спостерігалась виражена лейкопенія з підвищеним відсотком НГ порівняно з 2-ою та 3-ою дослідними групами.

Таблиця 5.2

Загальна кількість лейкоцитів та відсотковий вміст нейтрофільних гранулоцитів у бронхоальвеолярному змиві експериментальних тварин з гострим ураженням легень ($M \pm m$)

| Показник | Група I (n=12) | Група II (n=12) | Група III (n=12) | Група IV (n=12) | Група V (n=12) |
|-------------------------------|-------------------|----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Лейкоцити, $10^9/\text{л}$ | $1,0 \pm 0,1$ | $2,0 \pm 0,1^{***}$ | $3,1 \pm 0,1^{***}$ $p < 0,001$ | $3,3 \pm 0,1^{***}$ $p < 0,001$ | $3,2 \pm 0,1^{***}$ $p < 0,001$ |
| НГ, % | $0,4 \pm 0,1$ | $29,7 \pm 1,0^{***}$ | $69,5 \pm 1,5^{***}$ $p < 0,001$ | $69,4 \pm 0,8^{***}$ $p < 0,001$ | $69,6 \pm 1,2^{***}$ $p < 0,001$ |
| НГ, $10^9/\text{л}$ | $0,01 \pm 0,001$ | $0,610,03^{***}$ | $2,1 \pm 0,1$ $p < 0,001$ | $2,3 \pm 0,1$ | $2,3 \pm 0,1^{***}$ $p < 0,01$ |

Примітки: *** – достовірність відмінностей між контрольною і дослідною групою в даний термін обстеження; p – достовірність відмінностей між дослідними групами на 2, 6, 12 і 24 год після моделювання гострого ураження легень.

Порівнюючи клітинний склад БАЗ 4-ої групи, відмічено значне підвищення загального рівня лейкоцитів та виражений НГ ($2,12 \pm 0,14 \cdot 10^9/\text{л}$), що в 3,5 раза перевищував показники 3-ої групи.

Отримані результати вказують на те, що в міру прогресування ГУЛ зменшується рівень клітин у крові, тоді як у БАЗ рівень загальних лейкоцитів зростає, переважно за рахунок нейтрофілів (рис. 5.1, 5.2).

Отримані результати підтверджують припущення про регіонарну секвестрацію нейтрофілів у легнях в умовах ГУЛ та ГРДС, внаслідок чого відбувається зниження метаболічного резерву НГ периферичної крові. Це вказує на участь нейтрофілів у пусковому механізмі розвитку даного патологічного стану, які в активованому стані утворюють та вивільняють

кисневі радикали, секреторні дегранулянти, що мають пряму пошкоджуючу дію на ендотеліальні клітини.

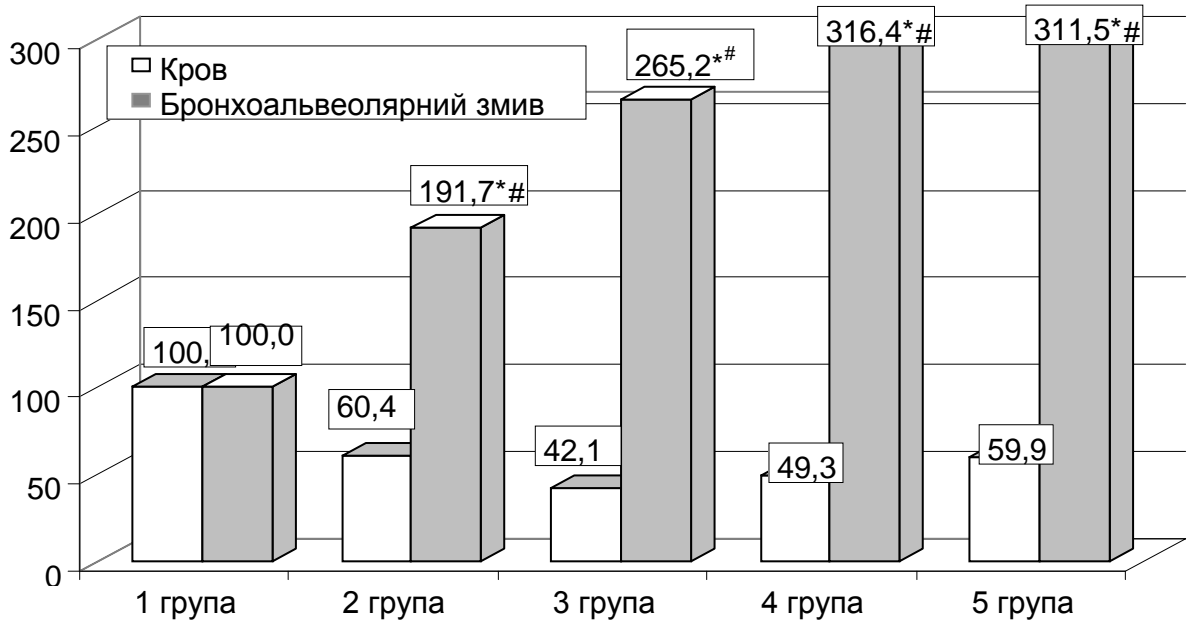


Рис. 5.1. Загальна кількість лейкоцитів при HCl-індукованому гострому ураженні легень у крові та бронхоальвеолярному змиві (* – $p < 0,001$ порівняно із контролем; # – $p < 0,001$ порівняно із даними в межах однієї групи).

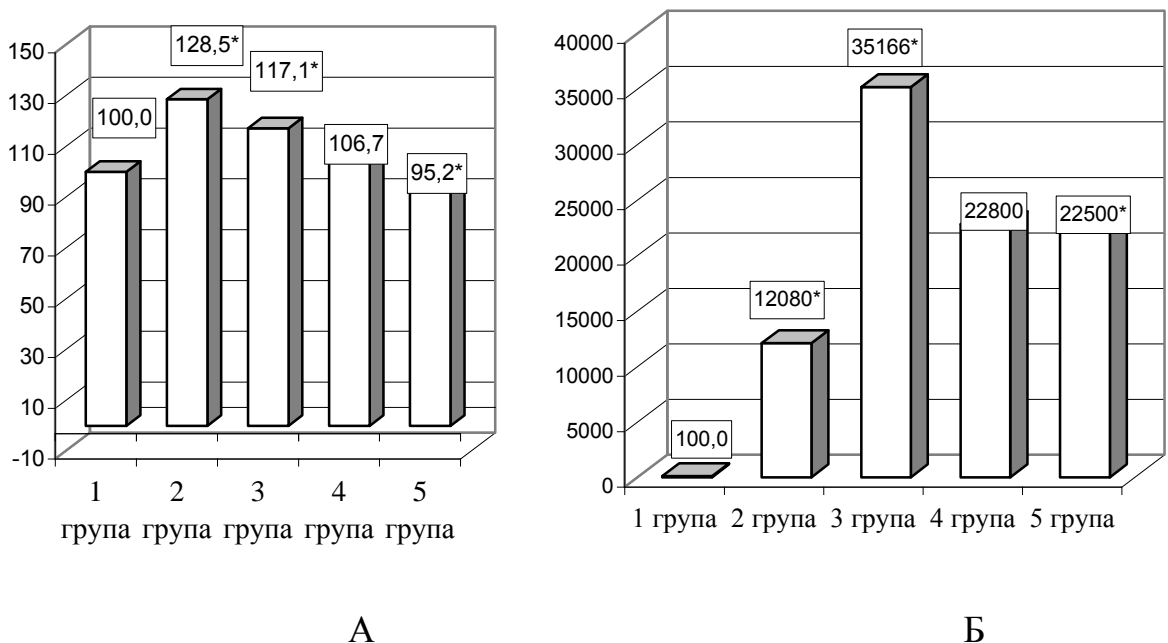


Рис. 5.2. Рівень нейтрофільних гранулоцитів при HCl-індукованому гострому ураженні легень у крові (А) та бронхоальвеолярному змиві (Б) (* – $p < 0,05$ порівняно із контролем).

Отримані результати вказують на те, що ініціація міграції НГ у легені відбувається і за відсутності інфекційного агента, тобто це є універсальна неспецифічна реакція організму на руйнівний патологічний процес.

Підтверджено припущення про регіонарну секвестрацію нейтрофілів у легенях в умовах ГУЛ, індукованого інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, внаслідок чого у периферичній крові має місце зниження загальної кількості лейкоцитів та НГ, що обумовлює зниження метаболічного резерву нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові.

5.2 Рівень активних форм кисню в нейтрофільних гранулоцитах щурів на тлі гострого ураження легень

Розвиток і прогресування ГУЛ певним чином залежить від активності нейтрофілів, функція яких є фагоцитоз і продукція АФК. У результаті нейтрофіли стають основним джерелом АФК, а їх гіперпродукція може призводити до порушення функцій, пошкодження і загибелі клітини внаслідок розвитку оксидативного стресу [414-416].

За результатами проведених досліджень виявилось, що в 2-ій дослідній групі в гепаринізованій крові експериментальних тварин з ГУЛ підвищився рівень АФК нейтрофілів ($p < 0,01$) до $71,43 \pm 0,60$ (%), порівняно з даними контролю $40,79 \pm 0,81$ (%), причому такий високий рівень кисневих радикалів відмічався протягом 24 год спостереження (рис. 5.3). Так, у 3-ій дослідній групі рівень АФК зріс на 9,5 % порівняно з 2-ою групою, а в 4-ій – на 4,6 % відносно отриманих результатів 3-ої групи. Через 24 год від початку НСІ-індукованого ГУЛ відсоток АФК у НГ зріс на 75,1 % стосовно даних контрольної групи ($p < 0,01$).

Здійснивши аналітичну оцінку даних, ми помітили, що АФК у гепаринізованій крові щурів з НСІ-індукованим ГУЛ практично відразу реагують з молекулами, що контактують з ними, а саме, з білками,

мембранними ліпідами, причому їх високий рівень зберігався протягом перших 24 год експерименту.

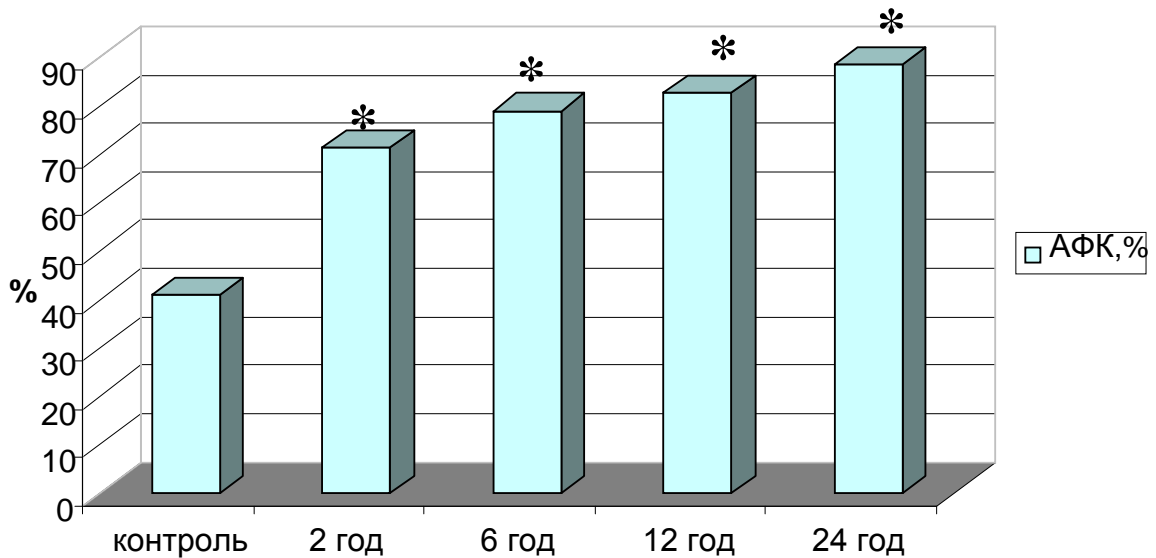


Рис. 5.3. Рівень активних форм кисню в нейтрофільних гранулоцитах крові при HCl-індукованому гострому ураженні легень (* – $p < 0,01$ порівняно із контролем).

Звертає на себе увагу досить високе значення АФК у контрольній групі. Проте АФК володіють не лише цитотоксичною дією, але й можуть виступати в якості вторинних месенджерів залежно від фізико-хімічних властивостей біологічних мембран, а також у регуляції таких клітинних реакцій як проліферація, диференціювання й апоптоз [417].

Проводячи аналіз рівня АФК НГ у БАЗ було встановлено, що рівень кисневих радикалів різко зростає вже на 2 год експерименту (на 106,0 % ($p < 0,01$)) (рис. 5.4). При цьому слід зауважити, що потенціал АФК був високий у всіх групах спостереження. Так, у 3-ій дослідній групі даний показник на цей час зріс порівняно з контролем у 2,2 раза ($p < 0,001$) та у 1,1 раза відносно даних 2-ої групи ($p < 0,01$). Порівнюючи отримані результати у двох останніх експериментальних групах, відмічено зростання АФК відповідно до даних контрольної групи.

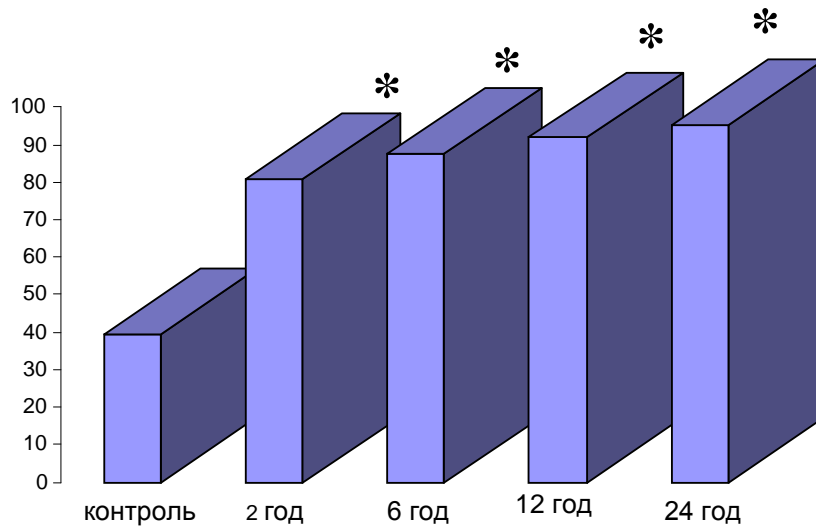


Рис. 5.4. Рівень активних форм кисню у нейтрофільних гранулоцитах бронхоальвеолярного змиву при HCl-індукованому гострому ураженні легень, % (* – $p < 0,001$ порівняно із контролем).

Співставляючи отримані результати в 4-ій та 5-ій групах встановлено, що різниця між показниками не була статистично значимою, хоча достовірно відрізнялась від даних контрольної групи ($p < 0,001$) (4-а дослідна група: $91,88 \pm 0,66$ (%) і 5-а дослідна група: $95,33 \pm 0,97$ (%) проти $39,29 \pm 0,65$ (%) – контроль). Важливо відмітити, що власне гіперпродукція АФК у НГ може зумовлювати функціональні порушення клітини і як наслідок загибель клітини в результаті розвитку оксидативного стресу.

Окисне ураження є результатом оксидативного стресу, коли порушується баланс прооксиданто-антиоксидної системи. Одним із проявів токсичної дії метаболітів кисню є інтенсифікація реакцій вільнорадикального окиснення, що проявляється зростанням рівня малонового діальдегіду. Відповідно, аналіз кореляційних зв'язків показав достовірний сильний прямий взаємозв'язок між АФК та ТБК-активними продуктами ПОЛ (табл. 5.3).

Важливим є співставлення результатів рівня АФК нейтрофілів у гепаринізованій крові та БАЗ щурів з модельованим хлоридним ГУЛ (рис. 5.5).

**Вірогідні кореляційні зв'язки між активними формами кисню
в нейтрофілах і ТБК-активними продуктами ПОЛ
бронхоальвеолярного змиву при гострому ураженні легень**

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|----------------------|-----------------------------------|----------------|--------------------------------|---|
| АФК в нейтрофілах, % | ТБК-активні продукти ПОЛ, ммоль/л | II | 0,76 | <0,01 |
| | | III | 0,88 | <0,01 |
| | | IV | 0,91 | <0,001 |
| | | V | 0,85 | <0,01 |

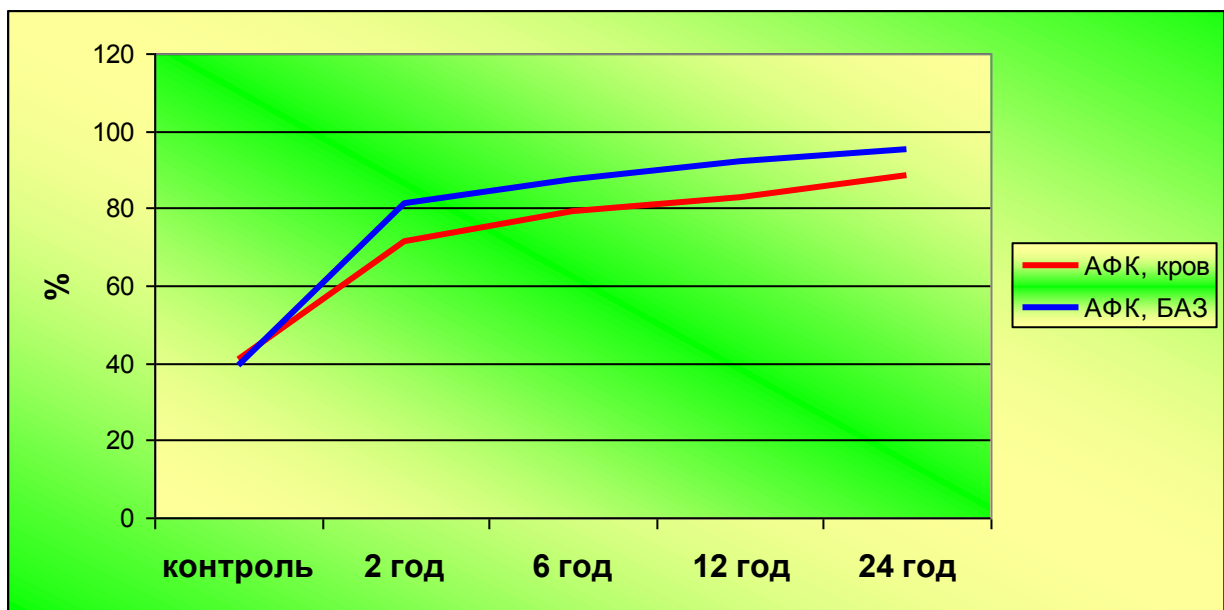


Рис. 5.5. Зміна активних форм кисню нейтрофілів у крові і бронхоальвеолярному змиві при експериментальному гострому ураженні легень.

Дослідженням встановлено, що зміни кисневих радикалів відбуваються односпрямовано у бік поглиблення оксидативного стресу. При цьому рівень АФК у 2-ій групі у БАЗ був на 13,4 % вищий порівняно з даними цієї ж групи у крові, у 3-ій та 4-ій групах у БАЗ – приблизно на

11,0 % більший, ніж у крові, у 5-ій групі в БАЗ – на 7,6 % переважав дані цієї ж групи в крові. Найбільш значиме зростання АФК у крові і БАЗ відмічено через 2 год спостереження. У міру прогресування ГУЛ рівень АФК залишався високим стосовно даних контрольної групи, проте статистично менш значимий в 3-ій, 4-ій та 5-ій експериментальних групах.

Важливим є те, що АФК при легеневій патології утворюються особливо інтенсивно при вихідній гіпоксії та запальній реакції, залежно від протікання захворювання [418]. Проведений кореляційний аналіз показав, що рівень АФК нейтрофілів гепаринізованої крові у щурів з ГУЛ мав високий негативний зв'язок з рівнем рН артеріальної крові у 2-ій та 3-тій дослідних групах ($p < 0,05$) (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Кореляційні зв'язки вмісту активних форм кисню в нейтрофілах крові щурів із загальним рівнем лейкоцитів, нейтрофільних гранулоцитів та газовим складом крові при гострому ураженні легень

| Дослідна група | Загальні лейкоцити, Г/л | Нейтрофільні гранулоцити, % | Нейтрофільні гранулоцити, к-сть | рН, мм.рт.ст. | pO_2/FiO_2 |
|----------------|-------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------|--------------|
| II | $r = 0,54$ | $r = 0,14$ | $r = 0,53$ | $r = -0,80^*$ | $r = -0,11$ |
| III | $r = 0,56$ | $r = -0,03$ | $r = 0,51$ | $r = -0,87^*$ | $r = -0,02$ |
| IV | $r = 0,48$ | $r = -0,02$ | $r = 0,30$ | $r = -0,51$ | $r = -0,07$ |
| V | $r = 0,33$ | $r = 0,1$ | $r = -0,29$ | $r = -0,11$ | $r = -0,26$ |

Примітка: * – достовірність відмінностей коефіцієнтів кореляції – ($p < 0,05$).

Надлишкове утворення іонів H^+ відбувається внаслідок накопичення недоокислених продуктів вуглеводного і ліпідного обміну. Респіраторний ацидоз, що розвивається за даних умов, пригнічує метаболічні процеси й іонний транспорт, зумовлює внутрішньоклітинне накопичення вільних іонів Ca^{2+} , які опосередковано через активацію мембранних фосфоліпаз сприяють

зростанню вільних жирних кислот і лізофосфатидів, що порушують структурну організацію білкових і ліпідних мембранних комплексів, у результаті чого підвищується інтенсивність ПОЛ [419].

Проведений кореляційний аналіз даних БАЗ показав, що рівень АФК нейтрофілів БАЗ у щурів з ГУЛ мав сильний позитивний кореляційний зв'язок з кількістю лейкоцитів у 3-ій, 4-ій та 5-ій експериментальних групах та позитивний кореляційний зв'язок з абсолютною кількістю НГ у цих же дослідних групах. Оцінюючи отримані результати, встановлено сильний негативний кореляційний зв'язок з рівнем рН крові у 2-ій та 3-ій експериментальних групах. Потрібно зауважити, що ацидоз зменшує спорідненість гемоглобіну з киснем, що суттєво посилює тканинну гіпоксію. Особливу увагу звертає на себе взаємозв'язок АФК нейтрофілів та газовим складом крові. Протягом першої доби після моделювання щурам ГУЛ рівень АФК в нейтрофілах тісно негативно корелював з pO_2/FiO_2 (табл. 5.5). Гіпоксія займає провідне місце в стимуляції реакцій вільнорадикального окиснення. Порушення метаболізму, що виникає при гіпоксії зумовлює зростання рівня АФК.

Таблиця 5.5

**Кореляційні зв'язки вмісту активних форм кисню в нейтрофілах
бронхоальвеолярного змиву щурів із загальним рівнем лейкоцитів,
нейтрофільних гранулоцитів та газовим складом крові при гострому
ураженні легень**

| Дослідна група | Загальні лейкоцити, Г/л | Нейтрофільні гранулоцити, % | Нейтрофільні гранулоцити, к-сть | рН, мм рт.ст. | pO_2/FiO_2 |
|----------------|-------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------|---------------|
| II | $r = 0,54$ | $r = -0,10$ | $r = 0,57$ | $r = -0,81^*$ | $r = -0,76^*$ |
| III | $r = 0,82^*$ | $r = 0,27$ | $r = 0,71^*$ | $r = -0,76^*$ | $r = -0,78^*$ |
| IV | $r = 0,75^*$ | $r = -0,15$ | $r = 0,70^*$ | $r = -0,48$ | $r = -0,89^*$ |
| V | $r = 0,87^*$ | $r = 0,43$ | $r = 0,76^*$ | $r = -0,16$ | $r = -0,74^*$ |

Примітка: * – достовірність відмінностей коефіцієнтів кореляції – ($p < 0,05$).

Звертає на себе увагу відмінність кореляційних зв'язків у крові та БАЗ, що, напевно, обумовлене більш вираженими патологічними змінами на місцевому рівні. Так, загальний рівень лейкоцитів, як і абсолютна кількість НГ, позитивно корелювали в БАЗ, тоді як у плазмі крові не виявлено взаємозв'язку між АФК та білими кров'яними тільцями. Отримані результати вказують на те, що в міру прогресування ГУЛ зменшується кількість клітин крові, тоді як у БАЗ зростає рівень лейкоцитів, в основному за рахунок нейтрофілів.

Наші дані підтверджують, що при ГУЛ, модельованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти у легенях більш виражений оксидаційний стрес, ніж у системному кровотоці. Враховуючи основну функцію нейтрофілів – фагоцитоз, вони швидко мігрують у зону ураження при появі певного патологічного чинника. Хлоридна кислота, яка виступає в даній моделі ГУЛ оксидантом, викликає у легенях полімеризацію актину нейтрофілів і знижує їх здатність до деформації, що зумовлює адгезію гранулоцитів до ендотелію. Накопичення активованих нейтрофілів у капілярній сітці альвеол та адгезія їх до ендотелію супроводжується генерацією АФК, що приводить до оксидаційного стресу, наслідком якого є руйнування структурних елементів альвеол.

5.3 Зміна трансмембранного потенціалу мітохондрій гранулоцитів крові та бронхоальвеолярного змиву при гострому ураженні легень в експерименті

За останній час кількість захворювань при яких індукується апоптоз невпинно росте і ця обставина посилює і без того сформовану думку про неймовірну складність даного процесу. Тому з'ясування порушень регуляції мітохондріального шляху ініціації апоптозу є важливим для розуміння механізмів розвитку ГУЛ, що спонукало нас визначити кількість клітин зі

зниженим трансмембранним потенціалом серед нейтрофілів гепаринізованої крові та БАЗ у щурів за умови даної патології.

Проведене нами дослідження в даному напрямку показало, що у першу фазу (перші 2 год пошкодження) ГУЛ у крові експериментальних тварин зростає кількість нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$ до $3,5\pm 0,1$ (%) порівняно з даними контролю $1,4\pm 0,1$ (%) ($p<0,001$), причому такий високий рівень клітин зі зниженим $\Delta\psi$ відмічався протягом 24 год спостереження (рис. 5.6).

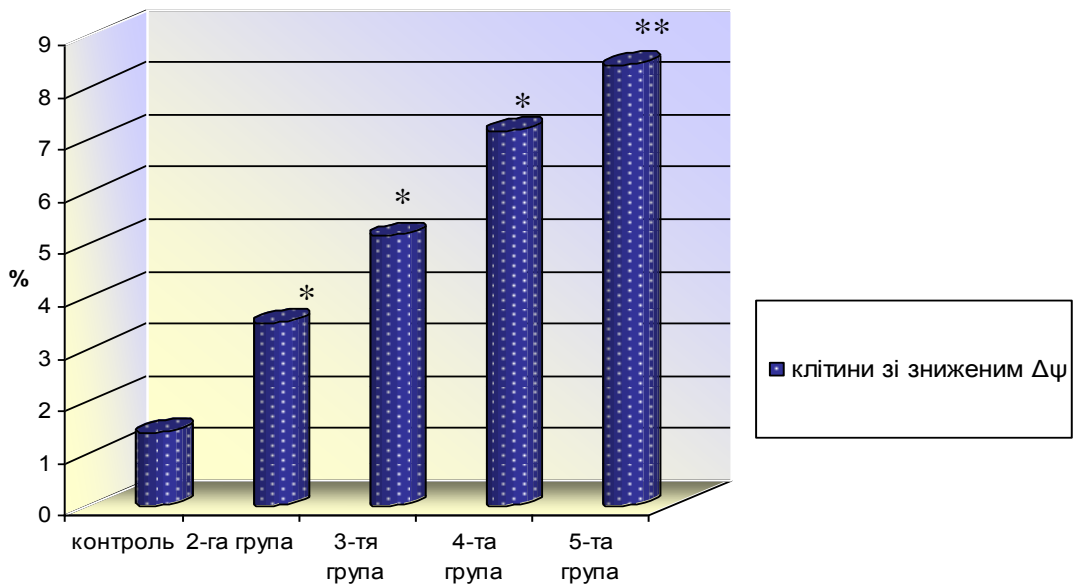


Рис. 5.6. Кількість нейтрофілів зі зниженим мітохондріальним трансмембранним потенціалом у крові при гострому ураженні легень (* – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами ($p<0,001$), ** – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами ($p<0,05$)).

При цьому, у 3-ій дослідній групі відсоток $\Delta\psi$ зріс на 47,8 % порівняно з 2-ою групою, а в 4-ій – на 38,9 % відносно отриманих результатів 3-ої групи. Через 24 год після моделювання НС1-індукованого ГУЛ рівень АФК зріс на 17,4 % стосовно даних на 12 год експерименту ($p<0,05$).

Проводячи аналіз кількості НГ у БАЗ було встановлено, що відсоток клітин зі зниженим $\Delta\psi$ різко зростає вже на 2 год експерименту в 4,0 рази, з

1,41±0,08 (%) – в контролі до 5,69±0,22 (%) у 2-ій експериментальній групі (p<0,001) (рис. 5.7).

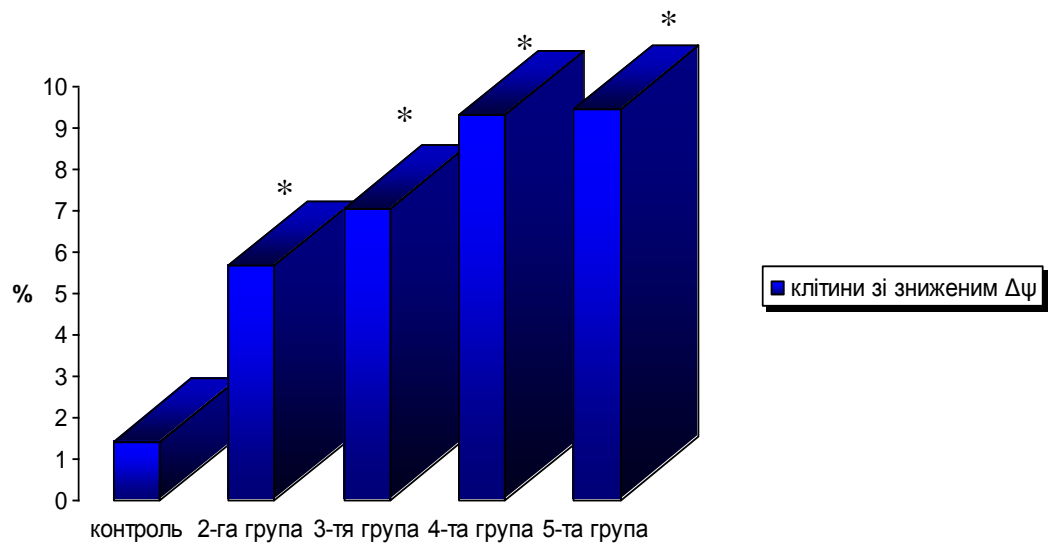


Рис. 5.7. Кількість нейтрофілів зі зниженим мітохондріальним трансмембранним потенціалом у бронхоальвеолярному змиві щурів за умови гострого ураження легень (* - різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами (p<0,001)).

Слід відмітити, що кількість нейтрофілів зі зниженим Δψ була високою у всіх групах спостереження. Так, у 3-ій дослідній групі даний показник достовірно зріс порівняно з контролем у 5 разів та у 1,2 раза відносно даних 2-ої групи (p<0,001). Аналізуючи отримані результати у двох останніх експериментальних групах, було відмічено зростання рівня клітин зі зниженим Δψ, відносно даних контрольної групи.

Співставляючи отримані результати у 4-ій та 5-ій групах було встановлено, що різниця між показниками не була значимою, хоча відрізнялась від даних контрольної групи (p<0,001) (4-а дослідна група: 9,35±0,34 (%) і 5-а дослідна група: 9,47±0,52 (%) проти 1,41±0,08 (%) – у контролі).

Важливим є співставлення результатів кількості нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$ у крові та БАЗ щурів із хлоридним ГУЛ (рис. 5.8.).

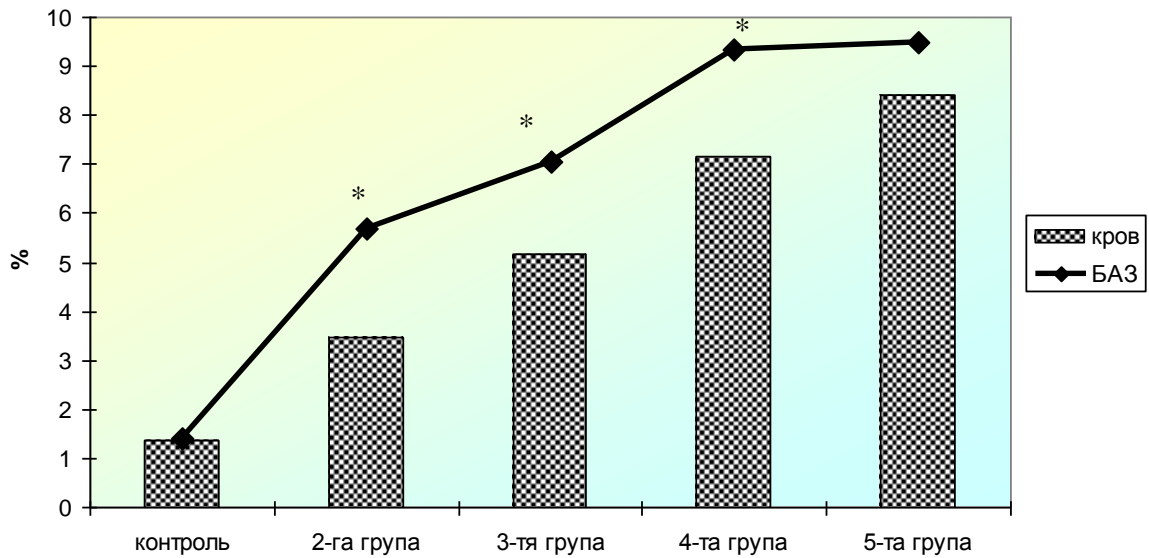


Рис. 5.8. Співставлення кількості нейтрофілів зі зниженим мітохондріальним трансмембранним потенціалом кисню у крові і бронхоальвеолярному змиві при гострому ураженні легень (* – різниця достовірна у порівнянні з ураженими тваринами в крові і бронхоальвеолярному змиві ($p < 0,001$)).

Враховуючи те, що рівень $\Delta\psi$ в крові і БАЗ експериментальних тварин статистично не відрізнявся, було проаналізовано як спрямованість, так і глибину змін мітохондріального потенціалу. При цьому було встановлено, що зміни $\Delta\psi$ в обох біологічних рідинах відбуваються односпрямовано у бік зростання кількості клітин зі зниженим $\Delta\psi$. Відсоток клітин зі зниженим $\Delta\psi$ у 2-ій групі у БАЗ був на 63,2 % вищий порівняно з даними цієї ж групи у гепаринізованій крові, у 3-ій групі – на 36,9 % та у 4-ій групі – на 30,6 % більший у БАЗ, ніж у крові ($p < 0,001$). Проведений статистичний аналіз даних на 24 год експерименту показав, що в досліджуваних біологічних рідинах відсоток нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$ був однаково високий і не відрізнявся в крові і БАЗ. Потрібно зауважити, що найбільш значиме зростання клітин зі зниженим $\Delta\psi$ у крові і в БАЗ відмічено через 2 год

спостереження. У міру прогресування ГУЛ рівень клітин зі зниженим $\Delta\psi$ залишився високим стосовно даних контрольної групи, проте статистично менш значимий у 5-ій експериментальній групі.

Проведений кореляційний аналіз даних $\Delta\psi$ 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-ій ($r=0,72$, $p<0,01$) та 4-ій ($r=0,83$; $p<0,01$) експериментальних групах та позитивний кореляційний зв'язок середньої сили у 3-ій дослідній групі ($r=0,67$; $p<0,05$), що свідчить про значиму рівноспрямованість змін в крові та БАЗ (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

Кореляційні зв'язки між кількістю нейтрофілів зі зниженим трансмембранним мітохондріальним потенціалом, ФНП- α й активністю СОД у бронхоальвеолярному змиві при гострому ураженні легень

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|---|-----------------------|----------------|--------------------------------|---|
| Кількість клітин зі зниженим $\Delta\psi$, % | ФНП- α , пг/мл | II | 0,76 | <0,01 |
| | | III | 0,72 | <0,05 |
| | | IV | 0,41 | >0,05 |
| | | V | 0,32 | >0,05 |
| | СОД, ум. од. | II | 0,21 | >0,05 |
| | | III | 0,27 | >0,05 |
| | | IV | -0,34 | >0,05 |
| | | V | -0,58 | <0,05 |

Причиною зниження $\Delta\psi$ при ГУЛ у тварин може бути також ФНП- α , який стимулює утворення ейкозаноїдів шляхом активації фосфоліпази A_2 . У свою чергу, ейкозаноїди інгібують мітохондріальну СОД. Це зумовлює накопичення супероксид-аніонів і пошкодження мітохондріальної мембрани [420]. Відповідно кореляційний аналіз показав достовірний позитивний

зв'язок середньої сили між кількістю клітин зі зниженим $\Delta\psi$ та ФНП- α у 2-ій і 3-ій дослідних групах ($p < 0,05$) та обернений вірогідний помірний взаємозв'язок між НГ зі зниженим $\Delta\psi$ у 5-ій експериментальній групі ($p < 0,05$) (див. табл. 5.5).

Отримані результати вказують на те, що у нейтрофілах крові та БАЗ при хлоридному ГУЛ проникність мембран мітохондрій та механізми її регуляції істотно змінені, що може бути пов'язано з порушеннями функціонування респіраторного ланцюга та шляхів утворення АТФ, надлишкової генерації АФК і змінами експресії та функції регуляторних білків, які беруть участь у мітохондріальному етапі ініціації апоптозу.

5.4 Система фактору некрозу пухлин- α у крові й бронхоальвеолярному змиві при гострому ураженні легень

Проведене нами дослідження показало, що в першу фазу ГУЛ (2-а дослідна група) у сироватці крові експериментальних тварин відбулось зростання в 4,8 раза ФНП- α , а далі його рівень зменшився у 3,1 раза на 6 год спостереження (3-я експериментальна група) і практично не змінився у 4-ій і 5-ій експериментальних групах. Широкий спектр регуляторної активності ФНП- α пояснює його появу вже на початкових етапах ГУЛ. На відміну від сироватки крові, у БАЗ зафіксовано зростання концентрації ФНП- α ($p_1 < 0,001$), приблизно у 9 разів протягом всього періоду експерименту (2, 6, 12 і 24 год) (табл. 5.6).

Для того, щоб об'єктивно відобразити відмінність змін у сироватці крові та БАЗ, ми прирівняли показники контролю до 100 %. При цьому було встановлено, що в першу фазу ГУЛ відбулася гіперпродукція ФНП- α як в крові, так і в БАЗ, хоча у легенях рівень даного цитокіну був значно вищий, ніж у сироватці. При подальшому дослідженні концентрація ФНП- α у сироватці крові поверталася до норми, тоді як у БАЗ залишалася високою протягом всього періоду спостереження (рис. 5.9).

**Зміна концентрації фактору некрозу пухлин- α у сироватці крові та
 бронхоальвеолярному змиві у щурів при експериментальному 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 | 17,70 \pm 2,21 | 13,23 \pm 2,00 | 14,339 \pm 1,56 |
| p | | $p_1 < 0,001$ | $p_2 < 0,001$ | $p_{1,2} > 0,05$ | $p_{1,2} > 0,05$ |
| ФНП- α , пг/мл (БАЗ) | 1,71 \pm 0,13 | 14,27 \pm 0,44 | 16,21 \pm 0,83 | 15,20 \pm 1,09 | 15,40 \pm 1,46 |
| p | | $p_1 < 0,001$ | $p_1 < 0,001$ | $p_1 < 0,001$ | $p_1 < 0,001$ |

Примітки: 1. p_1 – різниця достовірна у порівнянні з контрольними тваринами; 2. p_2 – різниця достовірна у порівнянні з ураженими тваринами.

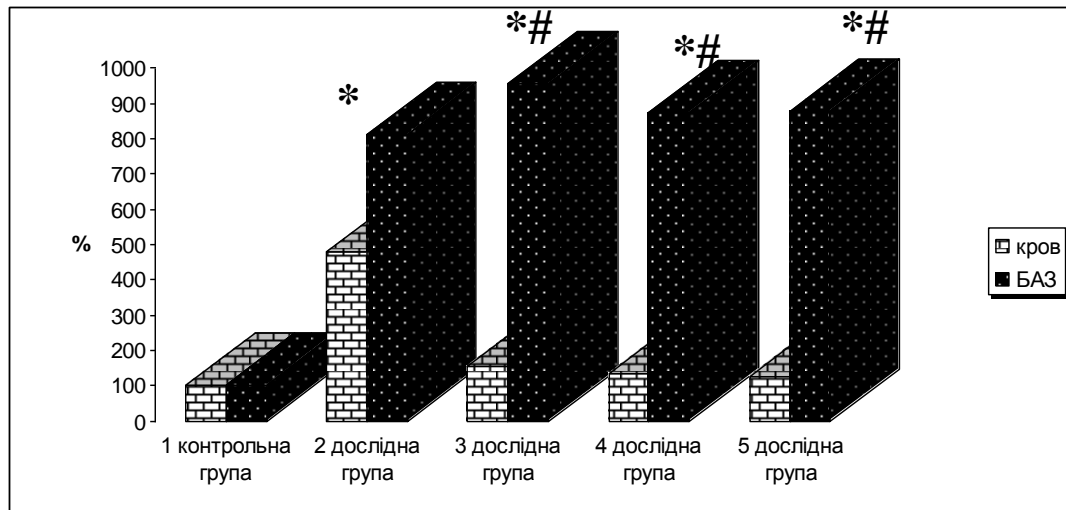


Рис. 5.9. Динаміка рівнів фактору некрозу пухлин- α у сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві у щурів при експериментальному гострому ураженні легень (* – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами в крові і БАЗ; # – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами, $p < 0,001$).

Всі популяції лейкоцитів, які приймають участь у запальному процесі, в тому числі і нейтрофіли, виділяють цитокіни, основною мішенню яких є ендотелій судин [421]. Біологічний ефект ФНП- α визначається його концентрацією. Системні ефекти ФНП- α проявляються у тому випадку, коли доза подразника настільки велика, що він активує нейтрофіли, які, у свою чергу, зумовлюють викид у кров'яне русло цитокінів. Таким чином, гіперпродукція ФНП- α є одним з чинників дисбалансу імунної рівноваги [422].

На нашу думку, у перші 2 год ФНП- α зростає в крові у результаті реактивної відповіді на дію патогенного чинника. Потрібно також зауважити, що в першу добу експериментального ГУЛ концентрація ФНП- α у БАЗ була високою, що, ймовірно, обумовлено активацією нейтрофілів та запуском метаболічних каскадних реакцій. Отримані результати свідчать про те, що гіперпродукція ФНП- α може відігравати важливу роль в ініціації ГУЛ.

Для глибшого дослідження ролі системи ФНП- α було проведено визначення кількості нейтрофілів крові та БАЗ, що несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП- α типу R1 (ФНП-R1 чи TNF-R1). В даний час ФНП-R1 механізм регуляції клітинного гомеостазу є універсальним, оскільки послідовність цитотоксичних реакцій, що індуковані певними патогенетичними чинниками, є наслідком власне активації ФНП-R1 [423].

Виявлено, що при HCl-індукованому ГУЛ відбулось зростання відсотку нейтрофілів, які несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП типу 1 як в крові, так і в БАЗ (рис. 5.10).

У крові відсоток ФНП-R1 зростав вже на 2-у годину експериментального моделювання ГУЛ, порівняно з контрольною групою ($34,32 \pm 0,32$ (%) проти $7,17 \pm 1,63$ (%)) і практично не змінювався протягом часу спостереження. Зовсім інша картина виявилась у БАЗ. Так, в 2-ій дослідній групі рівень ФНП-R1 у БАЗ зріс у 10,7 раза порівняно з контролем ($p < 0,001$). Зафіксовано також зростання відсотку клітин, які несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП- α типу 1 у міру наростання ГУЛ. Через 6 год рівень ФНП-R1 підвищився на 16,3 % відносно даних 2-ої дослідної

групи, через 12 год – на 17,1 %, стосовно результатів 3-ої групи і через 24 год моделювання ГУЛ – на 15,7 %, порівняно з 4-ою експериментальною групою.

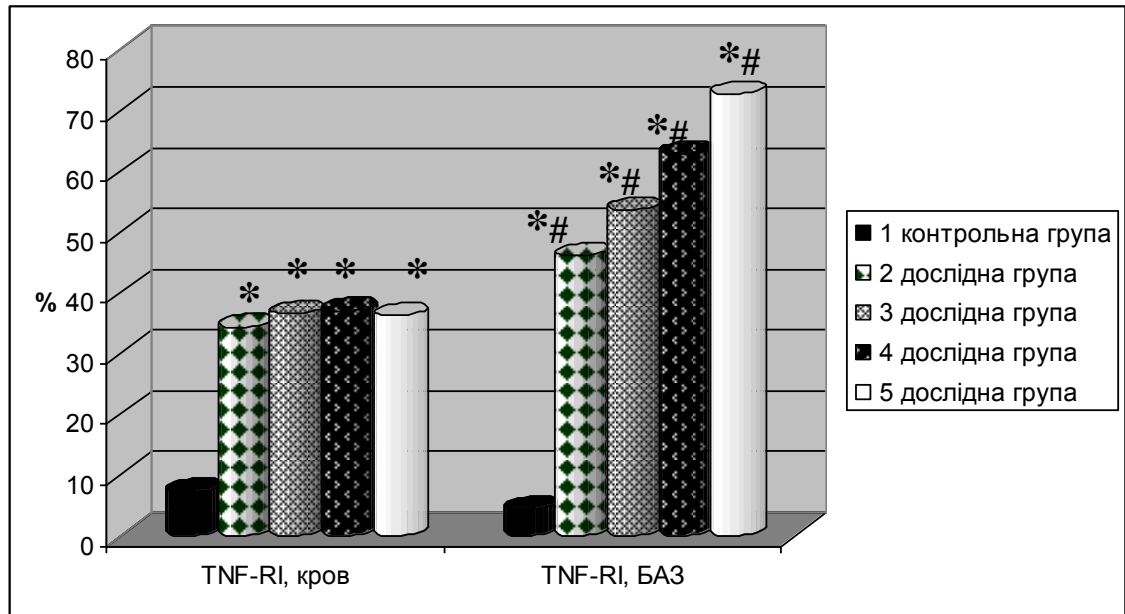


Рис. 5.10. Рівень TNF-R1 в крові та бронхоальвеолярному змиві у щурів при експериментальному гострому ураженні легень у динаміці (* – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами в крові і БАЗ ($p < 0,001$); # – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами ($p < 0,01$)).

Встановлені дані вказують на відмінність процесів на системному та місцевому рівнях. Так, у БАЗ великий відсоток ФНП-R1 пов'язаний, напевне, з необхідністю нейтралізувати цитотоксичну активність ФНП- α шляхом зв'язування даного цитокіну з ФНП-R1. Підвищення вмісту ФНП-R1 у крові щурів у першу фазу ГУЛ може бути розцінено як адаптивна відповідь на підвищення активності ФНП- α . У подальшому відсоток клітин, які несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП- α типу 1 залишався практично незмінним при концентрації ФНП- α наближеній до норми, що свідчить про підвищену готовність клітин до реалізації основних патологічних ефектів даного цитокіну, зокрема, ФНП- α – опосередкованої рецепторної програмованої смерті клітин.

5.5 Роль некрозо-апоптичних механізмів при гострому легеневому ураженні

Функціональні особливості нейтрофілів зумовлюють пріоритетність комплексного підходу в оцінці стану їх популяції. Це зумовлено відсутністю цілісної інформації про взаємозв'язок основних подій у житті цих ефекторних клітин – міграції, продукції АФК, апоптозу чи некрозу, що створює труднощі щодо встановлення участі та ролі нейтрофілів у різних патологічних процесах [424].

Як видно з даних табл. 5.7, у здорових статевозрілих щурів-самців ранній апоптоз нейтрофілів у легенях знаходився в межах від 0,44 до 0,58 % ($p < 0,05$), у крові – від 0,39 до 0,51 % ($p < 0,05$). При цьому ступінь раннього апоптозу нейтрофілів у легенях та крові практично не відрізнявся.

Таблиця 5.7

Ступінь апоптозно змінених нейтрофілів легень та крові в нормі, ($M \pm m$)

| Орган | Апоптоз ранній, % (n=6) | Апоптоз пізній чи некроз, % (n=6) | Неуражені клітини, % (n=6) |
|--------|----------------------------|---|----------------------------------|
| Легені | 0,51±0,03 | 0,60±0,15 | 97,8±0,80 |
| p | >0,05 | <0,01 | >0,05 |
| Кров | 0,45±0,06 | 0,42±0,07 | 98,93±0,16 |

Примітка: p – достовірність відмінностей показників у крові порівняно із легенями.

Одержані результати свідчать про те, що ранній апоптоз нейтрофілів притаманний як легеням, так і крові. Можна припустити, що у легенях нейтрофіли відіграють ключову роль у підтриманні локального імунітету і в більшій мірі контактують із речовинами антигенної природи, які здатні стимулювати в них апоптоз. Тому одним з механізмів, що дозволяє контролювати запальні реакції дихальних шляхів, можна вважати рівень апоптозу нейтрофілів, який найімовірніше збільшується за рахунок дії проапоптичних факторів, що утворюються у вогнищі запалення.

При проведенні дослідження в першу фазу (перші 2 год. пошкодження) ГУЛ у крові експериментальних тварин нами виявлено зростання кількості анексин-позитивних нейтрофілів на 146,7 % ($p < 0,001$), порівняно з даними контролю. Проте, вже у 2-у фазу ГУЛ (на 6 год експерименту) рівень нейтрофілів з ознаками раннього апоптозу був знижений на 43,2 % і не відрізнявся від результатів контролю в 3-ій, 4-ій і 5-ій дослідних групах (табл. 5.8).

Таблиця 5.8

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

| Показник | Контроль n=10 | Експериментальні групи | | | |
|--|------------------|------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| | | II n=12 | III n=12 | IV n=12 | V n=12 |
| Кількість нейтрофілів з ознаками раннього апоптозу, % (кров) | 0,45±0,03 | 1,11±0,10 | 0,63±0,09 | 0,59±0,10 | 0,60±0,07 |
| p | | $p_1 < 0,001$ | $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$ | $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ | $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ |
| Кількість нейтрофілів з ознаками раннього апоптозу, % (гомогенат легень) | 0,51±0,02 | 1,31±0,13 | 2,38±0,11 | 6,42±0,49 | 8,34±0,30 |
| p | | $p_1 < 0,001$ | $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ | $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ | $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$ |
| Кількість нейтрофілів з ознаками раннього апоптозу, % (БАЗ) | 0,61±0,05 | 1,56±0,13 | 2,41±0,15 | 6,53±0,46 | 8,65±0,30 |
| p | | $p_1 < 0,001$ | $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ | $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ | $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$ |

Примітки: 1. p_1 – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами; 2. p_2 – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами.

Проведений аналіз отриманих результатів щодо рівня апоптозу нейтрофілів у гомогенаті легень щурів із ГУЛ показав, що відсоток анексин-позитивних клітин був вищим у всіх групах спостереження відносно контролю ($p_1 < 0,001$). При цьому вже на 2-у год експерименту відсоток анексин-позитивних клітин зріс у 2,6 раза стосовно контролю, через 6 год – у 1,8 раза, відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – 2,7 раза, проти результатів 3-ої дослідної групи і на 24-у год досліді – в 1,4 раза, порівняно з попередньою групою.

Проводячи аналіз кількості анексин-позитивних нейтрофілів у БАЗ щурів із хлоридним ГУЛ було встановлено, що їх відсоток рівноспрямовано зростає протягом часу спостереження. Так, у 2-ій дослідній групі рівень раннього апоптозу нейтрофілів підвищився на 155,7 %, відносно контролю, у 3-ій – на 54,5 %, стосовно даних 2-ої групи, у 4-ій – на 170,9 %, проти результатів 3-ої групи і у 5-ій групі – на 32,5 %, порівняно з попередньою дослідною групою (див. табл. 5.8, рис. 5.11).

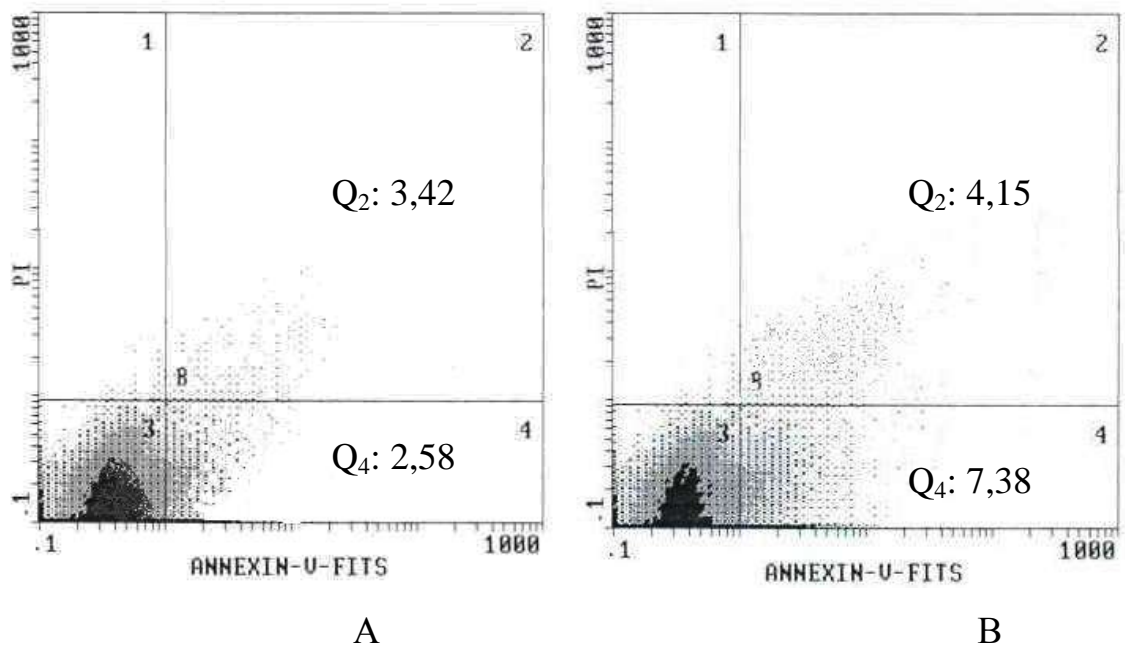


Рис. 5.11. Розподіл апоптичних клітин (Gate – neutrophils) у бронхоальвеолярному змиві в режимі DotPlot: А – 2-а дослідна група ГУЛ, В – 5-а дослідна група ГУЛ.

Важливим було дослідити не тільки ранній апоптоз, але й зміни пізнього апоптозу чи некрозу при експериментальному ГУЛ. Проведене нами дослідження показало у 2-ій дослідній групі у крові експериментальних тварин зростання кількості пізнього апоптозу чи некрозу нейтрофілів на 210,0 % ($p < 0,001$) порівняно з даними контролю, і практично не змінювався у 3-ій дослідній групі. Натомість у 4-ій експериментальній групі рівень нейтрофілів з ознаками пізнього апоптозу чи некрозу зменшився на 36,5 %, відносно 3-ої групи, проте був достовірно вищим показників 1-ої групи ($p < 0,05$).

У 5-ій дослідній групі рівень пізнього апоптозу чи некрозу при експериментальному ГУЛ мав несуттєве зниження і не відрізнявся від результатів контролю (табл. 5.9). Це вказує на те, що до кінця першої доби ГУЛ, індукованого хлоридною кислотою, у крові щурів відсутні явища клітинної деградації.

Аналіз отриманих результатів щодо рівня пізнього апоптозу чи некрозу нейтрофілів у гомогенаті легень щурів із ГУЛ показав зростання у всіх групах спостереження відносно контролю ($p < 0,001$). При цьому вже на 2-у год експерименту відсоток клітин з ознаками пізнього апоптозу чи некрозу зростав у 4,1 раза, стосовно контролю, через 6 год – у 1,5 раза, відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – у 1,2 раза, проти результатів 3-ої дослідної групи і залишався практично незмінним до кінця першої доби експерименту.

Проводячи аналіз рівня нейтрофілів з ознаками пізнього апоптозу чи некрозу у БАЗ щурів із модельованим гідрохлоридним ГУЛ було встановлено, що їх відсоток рівнонаправлено зростав протягом терміну спостереження ($p < 0,001$). Так, у 2-ій дослідній групі рівень пізнього апоптозу/некрозу нейтрофілів підвищився на 289,8 %, відносно контролю, у 3-ій – на 58,1 %, стосовно даних 2-ої групи, у 4-ій – на 25,8 %, проти результатів 3-ої групи і у 5-ій групі – практично не відрізнявся від отриманих даних попередньої дослідної групи (табл. 5.9, див. рис. 5.11).

Таблиця 5.9

**Зміна рівня пізнього апоптозу чи некрозу нейтрофілів крові,
 бронхоальвеолярного змиву та гомогенату легень у щурів при
 експериментальному гострому ураженні легень, (M±m)**

| Показник | Конт- роль n=10 | Експериментальні групи | | | |
|---|-----------------------|------------------------|--|--|---|
| | | II n=12 | III n=12 | IV n=12 | V n=12 |
| Рівень пізнього апоптозу чи некрозу нейтрофілів, % (кров) | 0,50±0,06 | 1,05±0,08 | 1,01±0,06 | 0,74±0,05 | 0,63±0,07 |
| p | | p ₁ <0,001 | p ₁ <0,001 p ₂ >0,05 | p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 | p ₁ >0,05 p ₂ >0,05 |
| Рівень пізнього апоптозу чи некрозу нейтрофілів, % (гомогенат легень) | 0,52±0,09 | 2,13±0,10 | 3,23±0,14 | 3,94±0,08 | 3,90±0,10 |
| p | | p ₁ <0,001 | p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 | p ₁ <0,001 p ₂ <0,01 | p ₁ <0,001 p ₂ >0,05 |
| Рівень пізнього апоптозу чи некрозу нейтрофілів, % (БАЗ) | 0,49±0,10 | 1,91±0,05 | 3,02±0,07 | 3,80±0,08 | 3,74±0,07 |
| p | | p ₁ <0,001 | p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 | p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 | p ₁ <0,001 p ₂ >0,05 |

Примітки: 1. p₁ – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами; 2. p₂ – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами.

Важливим є співставлення результатів реалізації апоптозу нейтрофілів у крові, гомогенаті легень та БАЗ щурів з індукованим хлоридною кислотою ГУЛ. Виявилось, що зміни кількості анексин-позитивних нейтрофілів у гомогенаті легень та бронхоальвеолярному змиві відбуваються односпрямовано у бік зростання відсотку раннього апоптозу (рис. 5.12). Це

свідчить про те, що при ГУЛ рівень раннього апоптозу в БАЗ достовірно відображає зміни даного показника у гомогенаті легень.

Слід відмітити, що найбільш значиме зростання рівня раннього апоптозу зафіксовано у першу фазу ГУЛ у 2-ій дослідній групі в крові, гомогенаті легень та БАЗ. У наступних дослідних групах кількість анексин-позитивних нейтрофілів у крові, на відміну від гомогенату легень та БАЗ, поверталася до норми протягом перших 24 год хлоридного ураження (рис. 5.12).

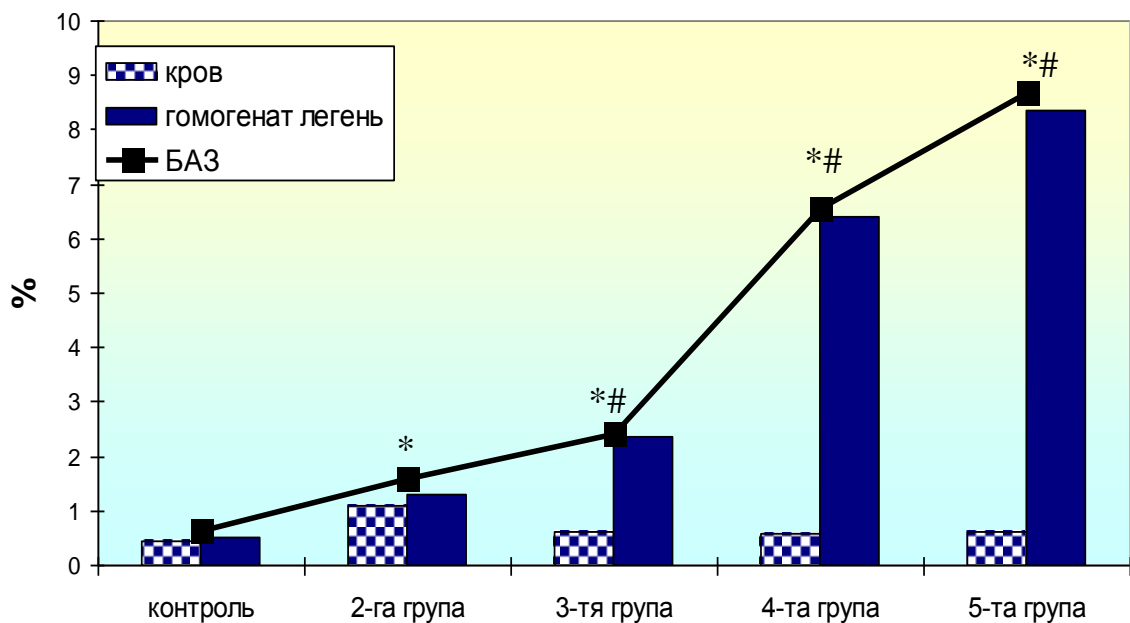


Рис. 5.12. Співставлення нейтрофілів з ознаками раннього апоптозу в крові, гомогенаті легень і бронхоальвеолярному змиві щурів при гострому ураженні легень (* – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами в крові і бронхоальвеолярному змиві ($p < 0,001$), # – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами в крові і гомогенаті легень ($p < 0,001$)).

Проведений порівняльний аналіз рівнів пізнього апоптозу чи некрозу НГ у щурів при ГУЛ також показав однакову спрямованість структурних змін гранулоцитів у гомогенаті легень і БАЗ, що було достовірно відмінним від показників у крові в усіх групах спостереження ($p < 0,001$) (рис. 5.13). Потрібно відмітити, що при ГУЛ рівень пізнього апоптозу чи некрозу в БАЗ

відображає зміни даного показника у гомогенаті легень. Відповідно, БАЗ може бути використаний для оцінки рівня індукованої смерті клітин у легенях.

Враховуючи значущу різницю даних раннього і пізнього апоптозу та для оцінки змін, що протікають у легенях на рівні клітини за умови ГУЛ, було прирівняно показники контрольної групи до 100 %. Для порівняння використано результати раннього і пізнього апоптозу в БАЗ (рис. 5.14). Встановлено, що індукована загибель клітин шляхом раннього та пізнього апоптозу чи некрозу у перші 2 год відбувалося в однаковій мірі, проте у 2-ій фазі ГУЛ (3-я дослідна група) спостерігалось переважаюче наростання пізнього апоптозу чи некрозу, що в 1,6 раза перевищувало дані раннього апоптозу.

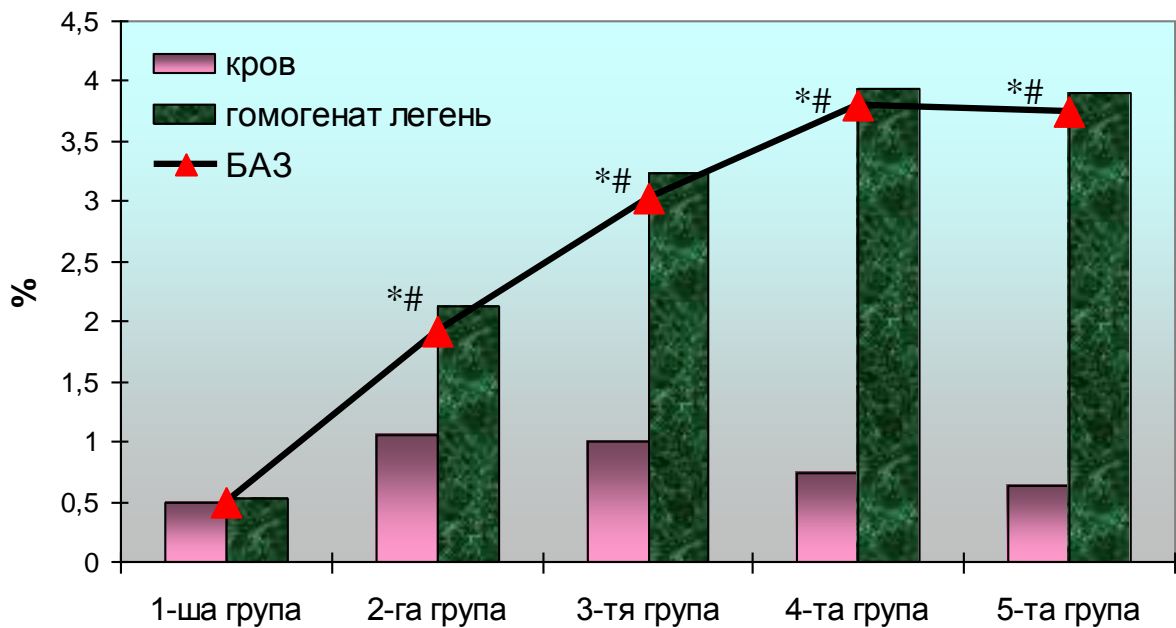


Рис. 5.13. Співставлення рівня пізнього апоптозу/некрозу нейтрофілів у крові, гомогенаті легень і бронхоальвеолярному змиві щурів при гострому ураженні легень (* – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами в крові і бронхоальвеолярному змиві ($p < 0,001$), # – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами в крові і гомогенаті легень ($p < 0,001$)).

Дана картина кардинально змінювалась у 4-ій експериментальній групі. На 12 год досліду в БАЗ переважали нейтрофіли з ознаками ранніх апоптичних змін, причому їх відсоток в 1,4 раза перевищував дані пізнього апоптозу у 4-ій групі, тоді як у 5-ій експериментальній групі їх кількість в 1,9 раза перевищувала відсоток НГ з явищами пізнього апоптозу чи некрозу.

Порівнюючи рівні пізнього апоптозу чи некрозу нейтрофілів у щурів при ГУЛ, також виявлено однакову спрямованість структурних змін гранулоцитів у гомогенаті легень і БАЗ, що відрізнялось від показників у крові в усіх групах спостереження ($p < 0,001$).

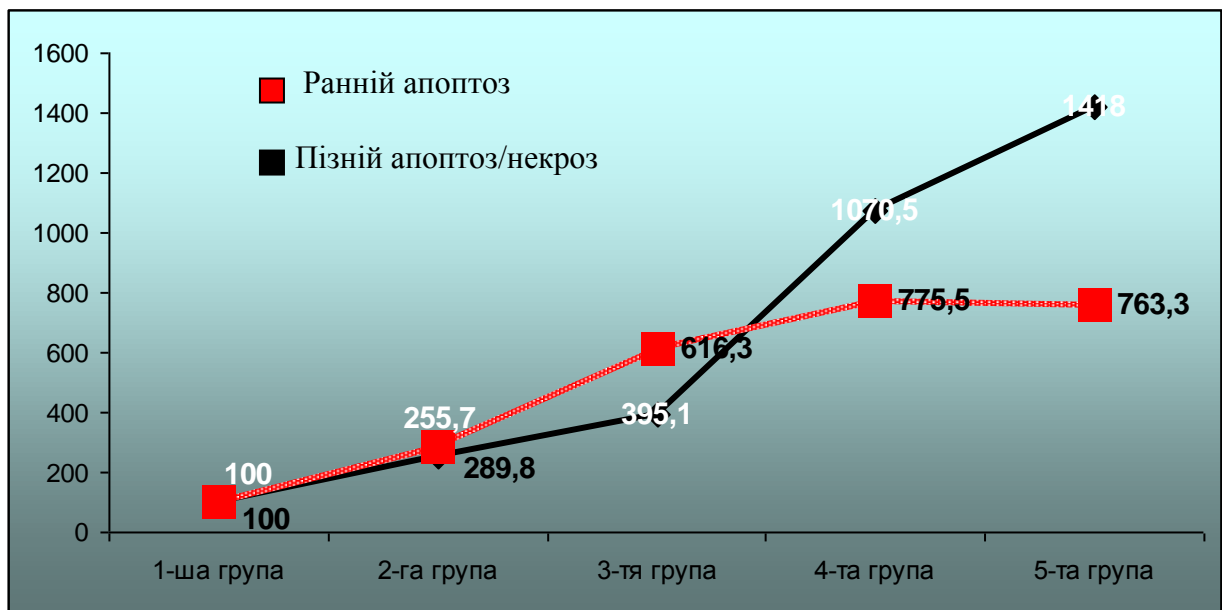


Рис. 5.14. Співставлення рівня раннього і пізнього апоптозу чи некрозу нейтрофілів у бронхоальвеолярному змиві щурів при гострому ураженні легень.

Дані свідчать про те, що протягом першої доби у щурів на тлі ГУЛ, індукованого інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, відбувалися дещо різні явища раннього та пізнього апоптозу чи некрозу, що проявлялося наростанням деструктивних змін НГ по типу пізнього апоптозу чи некрозу в перші 6 год ураження з наступним сповільненням цих процесів та активацією раннього апоптозу, який досягав максимальних значень через 24 год експерименту.

Такі зміни можна пояснити прямою пошкоджуючою дією хлоридної кислоти на альвеолярний епітелій, що зумовлює розвиток некротичних процесів у легенях, формування гіалінових мембран та крововиливів.

Якщо розглядати апоптоз з точки зору однієї з альтернатив клітинному поділу, що забезпечує гомеостаз у легеневій тканині, то можна припустити, що апоптоз приймає участь у патогенезі ГУЛ. При цьому апоптоз повинен працювати практично на всіх рівнях процесу: елімінації пошкоджених альвеолоцитів та ендотеліоцитів, видалення нейтрофілів, що мігрували в зону ураження та ін. Відомо, що при ГУЛ нейтрофіли мігрують у вогнище ураження для відновлення клітинного гомеостазу, де стають заручниками своєї ж здатності генерувати АФК, надмірно секретувати біологічно активні речовини, зумовлюючи оксидативний стрес. Виснаження ензиматичних і неензиматичних шляхів антиоксидного захисту від АФК та їх накопичення зумовлюють незворотнє пошкодження макромолекул, зниження трансмембранного потенціалу мітохондрій, вихід у цитозоль цитохрому С, Ca^{2+} та проапоптичних факторів, які зумовлюють швидку елімінацію функціонально неповноцінних клітин шляхом програмованої смерті клітин. Викликає інтерес також різниця апоптичних змін у динаміці ГУЛ у крові і БАЗ, що пов'язане із шляхом реалізації програмованої та індукованої загибелі клітин.

5.6 Зміна активності каспази-3 у крові та гомогенаті легень при експериментальному гострому ураженні легень

Оскільки каспазу-3, яка розщеплює важливі для підтримання клітинного гомеостазу протеїни, вважають основною ефекторною молекулою у «виконавчій» стадії у багатьох моделях апоптозу, було логічно з'ясувати її активність під час апоптозу, індукованого хлоридною кислотою при моделюванні ГУЛ.

Проведене нами дослідження активності каспази-3 вказало на те, що при ГУЛ у крові експериментальних тварин активність даної протеїнази практично не змінювалася протягом періоду спостереження, порівняно з даними контролю ($p > 0,05$) (табл. 5.10).

Таблиця 5.10.

Зміна активності каспази–3 в плазмі крові та гомогенаті легень у щурів при експериментальному гострому ураженні легень ($M \pm m$)

| Показник | Контроль n=6 | Експериментальні групи | | | |
|--|-----------------|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | II n=6 | III n=6 | IV n=6 | V n=6 |
| Каспаза-3, пмоль/мг білка (кров) | 19,43±0,88 | 18,50±1,45 | 16,65±1,64 | 15,98±1,41 | 16,23±1,36 |
| p | | $p_1 > 0,05$ | $p_{1,2} > 0,05$ | $p_{1,2} > 0,05$ | $p_{1,2} > 0,05$ |
| Каспаза-3, пмоль/мг білка (БАЗ) | 23,96±4,40 | 35,78±2,54 | 45,42±2,72 | 56,17±3,42 | 72,27±4,71 |
| p | | $p_1 < 0,001$ | $p_{1,2} < 0,001$ | $p_{1,2} < 0,001$ | $p_{1,2} < 0,001$ |

Примітки: 1. p_1 - різниця достовірна у порівнянні з контрольними тваринами; 2. p_2 - різниця достовірна у порівнянні з ураженими тваринами.

Проведений аналіз отриманих результатів активності каспази-3 у гомогенаті легень показав, що дана цистеїнова протеїназа рівномірно зростала у всіх дослідних групах протягом моделювання ГУЛ, індукованого введенням хлоридної кислоти ($p < 0,001$). Так, на 2 год експерименту активність каспази-3 зросла на 49,3 %, стосовно контролю, через 6 год – на 26,9 %, відносно даних 2-ої дослідної групи, через 12 год – на 23,7 %, проти результатів 3-ої дослідної групи і на 24 год досліді – на 28,7 %, порівняно з попередньої групою.

При порівнянні результатів каспазного шляху апоптозу виявлено, що незважаючи на прогресивне зростання активності каспази-3 у гомогенаті легень, у плазмі крові активність цистеїнової протеїнази залишалась практично незмінною (рис. 5.15).

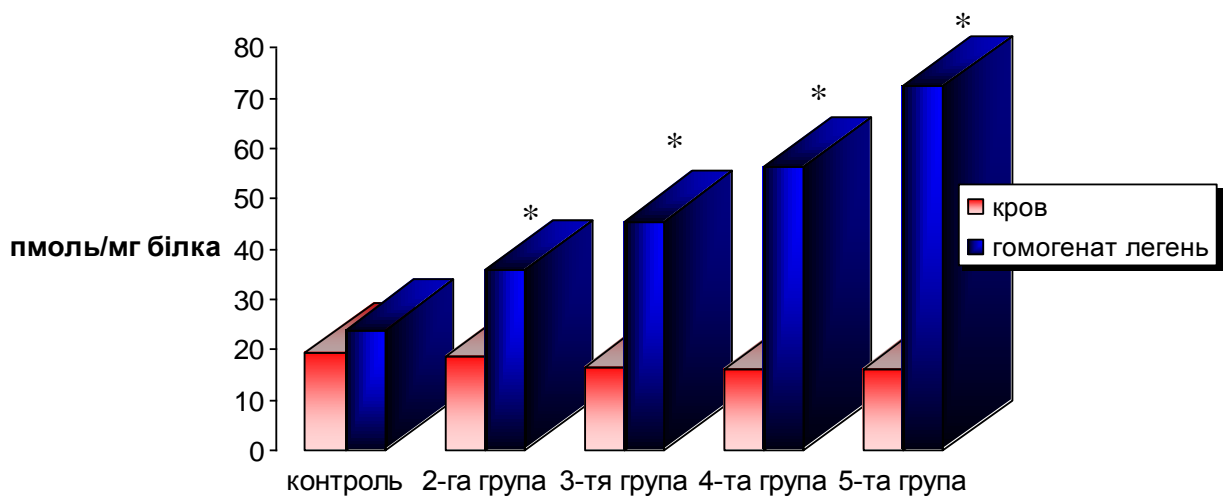


Рис. 5.15. Співставлення коцентрації каспази-3 у плазмі крові та гомогенаті легень щурів при гострому ураженні легень (* – різниця достовірна у порівнянні з контролем).

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

5.7 Молекулярні механізми фактор некрозу пухлин- α – опосередкованого апоптозу нейтрофілів на тлі експериментального гострого ураження легень

В даний час опубліковано досить суперечливі факти про вплив цитокінів на програмовану й індуковану загибель клітин. Так, встановлено, що апоптоз реалізується при дефіциті цитокінів, коли клітина відчуває нестачу тих чи інших факторів росту, які у звичайних умовах активують відповідні рецептори. Крім того, показано, що ряд цитокінів може проявляти як про-, так і антиапоптотичну дію на клітину. Кінцевий результат дії

цитокіну може визначатися його дозою, типом клітин-мішеней, їх функціональним станом, а також вогнищем ураження. Незважаючи на активне дослідження ролі окремих цитокінів у реалізації апоптозу, залишаються невідомими багато механізмів цього явища [425; 426].

Так, аналіз кореляційних зв'язків показав прямий середньої сили взаємозв'язок між концентрацією ФНП- α та рівнем раннього апоптозу у БАЗ щурів при ГУЛ у 3-ій, 4-ій і 5-ій дослідних групах (табл. 5.11), тоді як у крові експериментальних тварин не встановлено вірогідної залежності цих показників.

Таблиця 5.11

Кореляційні зв'язки між концентрацією фактору некрозу пухлин альфа та рівнем раннього апоптозу у бронхоальвеолярному змиві щурів при гострому ураженні легень

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|---------------------|---|----------------|--------------------------------|---|
| ФНП, пг/мл | Кількість анексин-позитивних нейтрофілів, % | 2 | 0,29 | >0,05 |
| | | 3 | 0,71 | <0,01 |
| | | 4 | 0,63 | <0,05 |
| | | 5 | 0,85 | <0,01 |

Це дозволяє нам припустити, що різна концентрація даного цитокіну у крові і БАЗ обумовлює відмінність реалізації індукованої смерті клітин, що спонукало нас дослідити відсоток нейтрофілів, які несуть мембранозв'язуючі рецептори ФНП- α .

Необхідною умовою для реалізації ФНП- α – опосередкованого апоптозу є наявність на плазматичній мембрані клітин специфічних високоафінних рецепторів. Наше дослідження показало зростання відсотку нейтрофілів, які несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП- α типу 1 при ГУЛ, а також встановлено вірогідно вищі значення кількості рецепторів,

порівняно з наростанням ФНП- α у БАЗ (рис. 5.16), що пов'язано, напевне, з адаптаційною реакцією клітин у відповідь на зміну продукції ФНП- α .

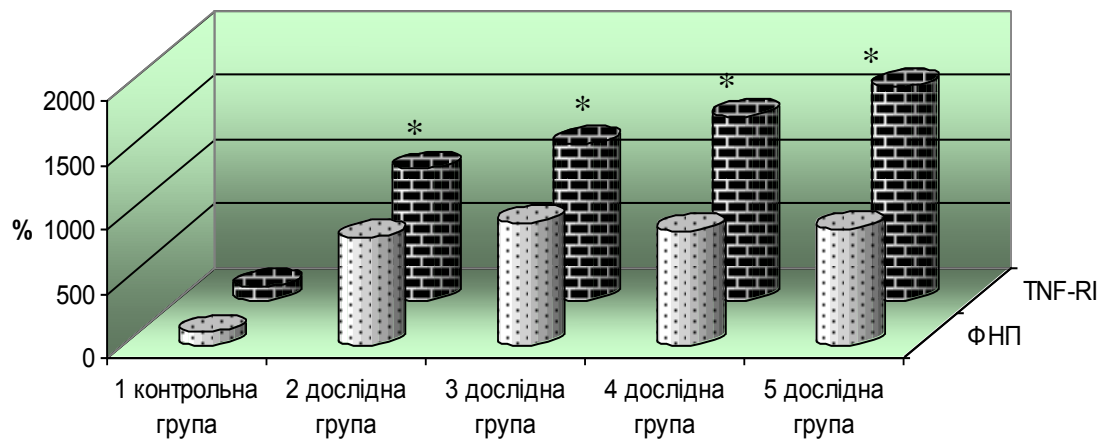


Рис. 5.16. Співставлення динаміки концентрації ФНП- α та відсотку нейтрофілів, які несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП типу 1 у бронхоальвеолярному змиві при гострому ураженні легень (* – різниця достовірна між досліджуваними показниками).

Для підтвердження нашого припущення проведено кореляційний аналіз між концентрацією даного цитокіна та його рецепторами, у результаті встановлено позитивний зв'язок між концентрацією ФНП- α та кількістю ФНП-R1-позитивних нейтрофілів у 3-ій ($r=0,59$; $p<0,05$) дослідній групі у БАЗ щурів при ГУЛ. Також нами виявлено позитивний кореляційний зв'язок між кількістю ФНП-R1-позитивних нейтрофілів і відсотком апоптозних змін у всіх дослідних групах (табл. 5.12).

Отримані дані свідчать про виражений проапоптичний ефект ФНП- α і вказують на те, що чим більше НГ мають на своїй поверхні мембранозв'язуючих рецепторів ФНП типу 1, тим імовірніше їх залучення в апоптоз.

ФНП- α здатний запускати одночасно декілька шляхів індукованої загибелі клітин, один з яких – активація каскаду каспаз. Аналіз кореляційних

зв'язків показав сильний позитивний кореляційний зв'язок між кількістю нейтрофілів з ФНП-R1 та активністю каспази-3 у легенях в усіх групах спостереження (табл. 5.13).

Таблиця 5.12

Кореляційний зв'язок між кількістю ФНП-R1-позитивних нейтрофілів і відсотком апоптозних змін у них у бронхоальвеолярному змиві при гострому ураженні легень

| Кореляційний зв'язок | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|----------------------|---|----------------|--------------------------------|---|
| Рівень ФНП-R1, % | Кількість анексин-позитивних нейтрофілів, % | 2 | 0,51 | <0,05 |
| | | 3 | 0,61 | <0,01 |
| | | 4 | 0,72 | <0,01 |
| | | 5 | 0,78 | <0,01 |

Таблиця 5.13

Вірогідні кореляційні зв'язки між активністю каспази-3 та кількістю клітин, що несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП типу 1 при гострому ураженні легень

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|--|--|----------------|--------------------------------|---|
| Рівень ФНП-R1 в бронхоальвеолярному змиві, % | Активність каспази-3 у гомогенаті легень, пмоль/мг білка | 2 | 0,88 | <0,01 |
| | | 3 | 0,90 | <0,001 |
| | | 4 | 0,95 | <0,001 |
| | | 5 | 0,81 | <0,01 |

Активність каспази-3 регулюється як зовнішніми, так і внутрішніми ФНП- α -рецептор-опосередкованими механізмами апоптозу. Проведені дослідження вказують на достовірне зростання активності каспази-3 у міру збільшення відсотку нейтрофілів, що несуть ФНП-R1 при ГУЛ,

індукованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, причому цитотоксичні ефекти ФНП- α опосередковані ФНП-R1 через його взаємодію з TRADD (зв'язаний з ФНП-R1 домен смерті).

5.8 Вплив процесів вільнорадикального окиснення на апоптичні зміни нейтрофільних гранулоцитів у щурів за умови гострого ураження легень

Кожна клітина у складі популяції є складною функціональною саморегулюючою системою, всі компоненти якої взаємозв'язані і взаємозалежні, а сигнальна система в нормі дозволяє утримувати параметри гомеостазу в контролюючих межах. При надпороговій дії адекватна пристосувальна реакція клітини може зумовити перехід на інший рівень функціонування. Запуск відповідної програми гомеостазу на рівні клітини може викликати гіпертрофію, гіперпроліферацію або стимулювати апоптоз [427, 428]. Проте основні фактори, які регулюють перехід клітини з одного стану в інший, враховуючи одночасно і потребу багатоклітинного організму як єдиного цілого, і потребу окремих елементів цього цілого, поки не визначені. Немає даних про апоптоз нейтрофілів, а також їхній взаємозв'язок із інтенсивністю ПОЛ та антиоксидного захисту, які в умовах патології є одними з ключових чинників його стимуляції [372, 427, 429].

Кореляційний аналіз ступеня раннього апоптозу НГ легень із досліджуваними біохімічними та імунологічними показниками показав (рис. 5.17) наявність позитивної кореляції слабкої сили із вмістом у гомогенаті легень СОД та середньої сили із вмістом у гомогенаті легень ТБК-активних продуктів ПОЛ і каталази та вмістом SH-груп ($p < 0,01$) і церулоплазміну в крові. У свою чергу, ранній апоптоз НГ крові негативно корелював із вмістом СОД, ТБК-активних продуктів ПОЛ, каталази (зв'язки слабкої сили) і церулоплазміну (середній зв'язок) та позитивно корелював із вмістом SH-груп (сильний зв'язок) у крові.

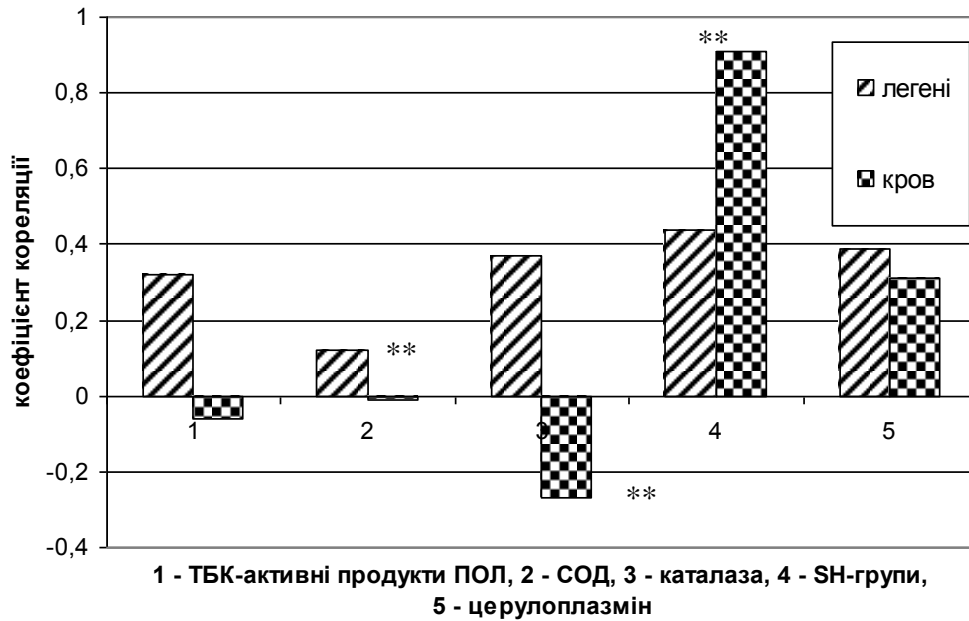


Рис. 5.17. Кореляція ступеня раннього апоптозу нейтрофілів легень і крові з показниками перексидного окиснення ліпідів та антиоксидного захисту в нормі.

Примітка: ** – достовірність відмінностей коефіцієнтів кореляції ($p < 0,01$).

В останні роки увагу клініцистів привертає вивчення вільнорадикального окиснення ліпідів мембран як регулятора фізіологічних процесів. Цей процес властивий нормальним тканинам і відбувається, зазвичай, при побудові ліпідних мембранних структур, їх оновленні, у ході біосинтезу ряду гормонів. Надмірна активація процесів ПОЛ веде до порушення структури мембран, ліпідного обміну, здійснює токсичний вплив на тканини, сприяє посиленню лізису, окисненню сульфгідрильних груп білків і призводить до розвитку структурних змін при захворюваннях легень й інших органів та систем організму [427]. Регуляція нормальної концентрації пероксиду ліпідів у біологічних мембранах здійснюється внаслідок збалансованої взаємодії реакцій утворення цих продуктів — реакцій оксидації та механізмів контролю, які ведуть до пригнічення їх утворення, – реакцій антиоксидації.

Аналіз кореляцій показав, що ступінь раннього апоптозу НГ у легенях збільшується із зростанням у крові вмісту продуктів ПОЛ й активності ферментної та неферментної ланок антиоксидного захисту. У легенях нейтрофіли найшвидше реагували на зміну оксидативно-антиоксидного гомеостазу, зумовлюючи накопичення активованих НГ у капілярній сітці альвеол та поглиблюючи оксидативний стрес, що відповідає сучасному баченню основних механізмів стимулювання апоптозу у патологічних умовах [430]. У нормальних фізіологічних умовах деструктивна дія продуктів ПОЛ стримується багаторівневою системою антиоксидного захисту, що показано в нашому дослідженні.

Потрібно зауважити, що рівень раннього апоптозу нейтрофілів легень і крові позитивно корелював із вмістом у крові вільних SH-груп та церулоплазміну. Відомо, що SH-групи білкових молекул, в основному відновленого глутатіону, одними з перших беруть участь у нейтралізації вільних радикалів та токсинів [427]. Цей процес відбувається безперервно, що супроводжується посиленням утворенням відновленого глутатіону, який, очевидно, у фізіологічних умовах пропорційний до накопичення вільних радикалів, й тому позитивно корелює із ступенем первинного апоптозу.

Дослідження останніх років виявили зв'язок між процесами вільнорадикального окиснення й апоптозом [263, 264]. Аналіз результатів їх вивчення свідчить про існування функціональної системи регуляції клітинного гомеостазу. Поки немає переконаності в існуванні її центральної ланки в гіпоталамусі, але встановлено вплив цитокінів на її ланки [431]. Дані декількох дослідників [249, 262, 263, 264, 270] свідчать про те, що робочими ланками системи є рецептори і гени, від яких залежить синтез і дія ферментних білків – регуляторів рівня апоптозу, вільні радикали, про-антиоксидна система та інші. Проведений кореляційний аналіз показав прямий середньої сили зв'язок між ТБК-активними продуктами ПОЛ та рівнем раннього апоптозу в 3-ій, 4-ій і 5-ій групах (табл. 5.14) у гомогенаті легень при експериментальному ГУЛ. Така ж сама спрямованість відмічена

між концентрацією ТБК-активних продуктів ПОЛ та рівнем пізнього апоптозу чи некрозу.

Таблиця 5.14

Кореляційні зв'язки між показниками прооксидантної системи та рівнем раннього апоптозу в гомогенаті легень при експериментальному гострому ураженні легень

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|------------------------------------|---|----------------|--------------------------------|---|
| ТБК-активні продукти ПОЛ, ммоль/кг | Кількість анексин-позитивних нейтрофілів, % | 2 | 0,43 | >0,05 |
| | | 3 | 0,51 | <0,05 |
| | | 4 | 0,69 | <0,05 |
| | | 5 | 0,71 | <0,05 |

Отримані результати свідчать про те, що при ГУЛ активація процесів пероксидного окиснення ліпідів зумовлює апоптичні зміни клітин, що тісно пов'язане з оксидаційною альтерацією біологічних сполук під дією АФК. Токсична дія продуктів ПОЛ нівелюється функціонуванням антиоксидного захисту, яка представлена ферментними та неферментними компонентами. Встановлено, що антиоксиданти можуть попереджувати або знижувати апоптичні зміни клітини [432].

Встановлено, що при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти активація реакції вільнорадикального окиснення привела до накопичення у тканинах і біологічних рідинах, зокрема в БАЗ, АФК, у результаті чого ініціюються процеси ПОЛ. Антиоксидна система захищає організм від токсичної дії продуктів ПОЛ впродовж перших 6 год після ураження, проте не захищає організм від запуску програмованої та індукованої клітинної загибелі, хоча дещо зменшує її прояви. Гіпотеза щодо впливу активації ПОЛ та пригнічення антиоксидної системи підтверджується існуванням прямої залежності апоптозу і ТБК-активних

продуктів та оберненої залежності між апоптозом і ферментними компонентами антиоксидного захисту через 12 год ГУЛ.

При проведенні дослідження виявлено обернений середній зв'язок між СОД і кількістю анексин-позитивних нейтрофілів у гомогенаті легень у 4-ій і 5-ій дослідних групах, а також помірний негативний зв'язок між активністю каталази та рівнем раннього апоптозу в 4-ій і 5-ій експериментальних групах (табл. 5.15).

Таблиця 5.15

Кореляційні зв'язки між показниками системи антиоксидантного захисту та рівнем раннього апоптозу в гомогенаті легень при експериментальному гострому ураженні легень

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|---------------------|---|----------------|--------------------------------|---|
| СОД, ум. од. | Кількість анексин-позитивних нейтрофілів, % | 2 | 0,10 | >0,05 |
| | | 3 | -0,08 | >0,05 |
| | | 4 | -0,51 | <0,05 |
| | | 5 | -0,62 | <0,01 |
| Каталаза, мкат/кг | | 2 | 0,06 | >0,05 |
| | | 3 | -0,12 | >0,05 |
| | | 4 | -0,47 | <0,05 |
| | | 5 | -0,47 | <0,05 |

Досліджено, що при активації пероксидних процесів відбувається стимуляція окиснювальної модифікації мембранних фосфоліпідів та білків, що призводить до зміни фізико-хімічних властивостей клітин [433]. Дослідження показало прямий взаємозв'язок між ОМБ нейтрального характеру і кількістю анексин-позитивних клітин у 4-ій ($r=0,59$; $p<0,05$) 5-ій ($r=0,61$; $p<0,05$) дослідних групах.

Атака білків АФК призводить до утворення первинних амінокислотних радикалів, які вступають у вторинні взаємодії із сусідніми амінокислотними залишками, що в цілому створює досить складну картину ушкоджуючої дії АФК на білкові макромолекули [434]. Ушкодження ліпідного матриксу біомембран за рахунок утворення пероксидних молекулярних продуктів поліненасичених ацилів супроводжується ОМБ і порушенням біофізичних властивостей мембранних білків, що призводить до глибоких змін ферментних та іон-транспортних властивостей мембран [435, 436].

Відомо, що оксид азоту є не тільки одним з компонентів оксидативного стресу, але й важливим медіатором клітинного метаболізму. Тому для встановлення ролі оксиду азоту та його метаболітів у механізмах регуляції апоптозу нейтрофілів при ГУЛ, було проведено кореляційний аналіз між даними показниками. Виявлено обернена залежність між нітрит-аніоном та числом анексин-позитивних нейтрофілів у 4-ій ($r=-0,59$; $p<0,05$) 5-ій ($r=-0,74$; $p<0,05$) дослідних групах, що підтверджує думку про вплив оксиду азоту на розвиток апоптозу НГ.

5.9 Роль мітохондрій в апоптозі при експериментальному гострому ураженні легень

Розглядаючи механізми реалізації апоптозу клітини, важливе місце приділяється мітохондріям, які утворюють складну систему, являючись як мішенями, так і продуцентами АФК [437, 438]. Проведені в останні роки дослідження показали чіткі докази центральної ролі мітохондрій в інтеграції більшості внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, що ведуть клітину до загибелі. Окрім відомої енергетичної функції, яку раніше вважали основною для цих органел, мітохондрії не тільки приймають та координують проапоптозні сигнали, але і самі виробляють їх [439]. Мітохондрії здатні модулювати танатогенну програму шляхом зміни продукції оксидативних еквівалентів у вигляді АФК [440, 441]. Встановлено, що в організмі постійно

утворюється невелика кількість супероксид-аніону та пероксиду водню в електронно-транспортному ланцюгу мітохондрій [439]. Зміни трансмембранного потенціалу мітохондрій та вивільнення з міжмембранного простору мітохондрій проапоптозних факторів (зокрема цитохрому С) знижує електрохімічний градієнт протонів, який створюється на внутрішній мембрані мітохондрій ланцюгом переносу електронів, що викликає в клітинах, з одного боку, зменшення швидкості утворення АТФ – так званий «енергетичний голод», а з іншого, посилюють перехід електронів на кисень, тим самим підвищуючи кількість внутрішньоклітинних АФК [438, 439, 442]. Ініціація внутрішнього шляху апоптозу у взаємодії із зовнішнім, пов'язаним із ліганд-залежною активацією рецепторів смерті плазматичної мембрани, обумовлює той поріг, за яким загибель клітини є неминучою.

Отже, з'ясування порушень регуляції мітохондріального етапу апоптозу важливо для розуміння механізмів гострого ураження легень.

Згідно експериментальних досліджень останніх років, порушення регуляції апоптозу лейкоцитарних клітин, у тому числі і нейтрофілів, може відігравати ключову роль у розвитку і прогресуванні легневих захворювань [443]. Проведений кореляційний аналіз показав, що рівень раннього апоптозу НГ крові у щурів з ГУЛ помірно корелював із зниженим $\Delta\psi$ у 5-ій дослідній групі та з рівнем АФК нейтрофілів у 4-ій та 5-ій групах (табл. 5.16).

Зафіксовано також позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між кількістю нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$ та відсотком АФК нейтрофілів у 4-ій та сильний позитивний кореляційний зв'язок у 5-ій дослідних групах. Провівши порівняльний аналіз кореляційних зв'язків між показниками раннього апоптозу, трансмембранним потенціалом мітохондрій та рівнем АФК НГ у БАЗ встановлено, що при ГУЛ, що індуковане інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, вже у першу фазу ГУЛ (перші 2 год експерименту) був достовірний позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між досліджуваними показниками, який залишався незмінним і в 3-ій

дослідній групі. Через 12 год досліджу сила зв'язку зростала і в 5-ій групі набувала максимальних значень (табл. 5.17).

Таблиця 5.16

**Кореляційні зв'язки між показниками раннього апоптозу,
трансмембранним потенціалом мітохондрій та рівнем АФК нейтрофілів
у крові при гострому ураженні легень**

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|--|--|----------------|--------------------------------|---|
| Кількість нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$, % | Кількість анексин-позитивних нейтрофілів, % | II | 0,27 | >0,05 |
| | | III | 0,44 | >0,05 |
| | | IV | 0,51 | >0,05 |
| | | V | 0,61 | <0,05 |
| Рівень активних форм кисню в нейтрофілах, % | Кількість анексин-позитивних нейтрофілів, % | II | 0,51 | >0,05 |
| | | III | 0,52 | >0,05 |
| | | IV | 0,69 | <0,05 |
| | | V | 0,65 | <0,05 |
| Рівень активних форм кисню в нейтрофілах, % | Кількість нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$, % | II | 0,48 | >0,05 |
| | | III | 0,15 | >0,05 |
| | | IV | 0,58 | <0,05 |
| | | V | 0,90 | <0,001 |

Наше дослідження показало, що при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, у міру збільшення рівня АФК у НГ зросла і кількість анексин-позитивних нейтрофілів у БАЗ, що свідчило про достовірну залежність цих двох процесів у легенях.

Зниження трансмембранного потенціалу мітохондрій, зазвичай, розглядається як одне з провідних проявів апоптозу. Причому, найімовірніше, що фрагментація ДНК відбувається саме в клітинах зі зниженим $\Delta\psi$.

**Кореляційні зв'язки між показником раннього апоптозу,
трансмембранним потенціалом мітохондрій та рівнем АФК нейтрофілів
у бронхоальвеолярному змиві при гострому ураженні легень**

| Кореляційні зв'язки | | Дослідні групи | Коефіцієнт кореляції, r_{xy} | Вірогідність кореляційного зв'язку, p |
|--|--|----------------|--------------------------------|---|
| Кількість нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$, % | Кількість анексин-позитивних нейтрофілів, % | II | 0,61 | <0,05 |
| | | III | 0,68 | <0,05 |
| | | IV | 0,81 | <0,01 |
| | | V | 0,81 | <0,01 |
| Рівень активних форм кисню в нейтрофілах, % | Кількість анексин-позитивних нейтрофілів, % | II | 0,64 | <0,05 |
| | | III | 0,78 | <0,01 |
| | | IV | 0,92 | <0,001 |
| | | V | 0,91 | <0,001 |
| Рівень активних форм кисню в нейтрофілах, % | Кількість нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$, % | II | 0,58 | <0,05 |
| | | III | 0,69 | <0,05 |
| | | IV | 0,75 | <0,01 |
| | | V | 0,90 | <0,001 |

Відомо, що вільні радикали відіграють важливу роль у транспорті електронів у дихальному ланцюзі, індукції утворення пор у мітохондріальній мембрані, окисному фосфорилуванні. У дослідженні виявлено вірогідний прямий взаємозв'язок між рівнем АФК та кількістю нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$ у всіх групах спостереження ($p < 0,05-0,001$) у БАЗ та у 4-ій а 5-ій групах у крові при експериментальному ГУЛ, що вказує на важливу односпрямовану дію кисневих радикалів та $\Delta\psi$ в апоптичних змінах клітин. Кореляційний аналіз показав, що при ГУЛ у міру збільшення кількості нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$ зростає і кількість анексин-позитивних нейтрофілів у БАЗ, що свідчило про достовірну залежність цих двох процесів у легенях.

Аналізуючи отримані результати, можна стверджувати, що при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, відбувається неспецифічна активація кисневозалежного метаболізму НГ, змінюється їх редокс-стан внаслідок підвищення утворення вільних радикалів нейтрофілами (так званий «респіраторний вибух»). АФК викликають не тільки пошкодження тканин, але і самі по собі можуть спричинити агрегацію лейкоцитів, продукти агресії яких (протеази, кисневі радикали, цитокіни) пошкоджують ендотеліальні клітини.

Важливим результатом нашого дослідження є встановлення різних змін при ГУЛ у крові і БАЗ, що обумовлено, мабуть, особливостями патогенетичних механізмів при даному захворюванні. Однією з причин такої різниці може бути характерна для ГУЛ міграція нейтрофілів у дихальні шляхи та активація місцевих факторів захисту, до яких відноситься й апоптоз, основна мета якого зменшити кількість клітин імунної системи, що приймають участь у запальному процесі. Згодом даний патогенетичний механізм набув генералізованого характеру і через 24 год експерименту (5-а дослідна група) спостерігався прямий кореляційний зв'язок між досліджуваними маркерами апоптозу в крові. На нашу думку, проведене дослідження дозволяє стверджувати про те, що при ГУЛ, модельованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, у першу добу експерименту більше інформаційне значення має БАЗ, аніж кров. По-друге, нами встановлений істотний вплив мітохондріально-опосередкованого шляху апоптозу в патогенезі ГУЛ.

Узагальнюючи результати дисертаційного дослідження, що наведені в даному розділі, можна виділити наступні висновки:

1. При гострому ураженні легень, індукованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, має місце зниження метаболічного резерву нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові, тоді як у бронхоальвеолярному змиві загальний рівень лейкоцитів зростає, переважно за рахунок нейтрофілів.

2. За умови HCl-індукованого гострого ураження легень як у крові, так і в бронхоальвеолярному змиві зростає рівень активних форм кисню у міру прогресування захворювання. При співставленні результатів рівня активних форм нейтрофілів у плазмі крові та гомогенаті легень щурів з модельованим хлоридним госрим ураженням легень виявлено синхронний розвиток оксидативного стресу на системному і місцевому рівнях з переважанням легеневого оксидативного спалаху.

3. При хлоридному гострому ураженні легень істотно змінена проникність мембран мітохондрій нейтрофілів крові та бронхоальвеолярного змиву, що проявляється зростанням кількості нейтрофільних гранулоцитів зі зниженим трансмембранним мітохондріальним потенціалом та пов'язане із надмірною генерацією активних форм кисню, які беруть участь у мітохондріальному етапі апоптозу.

4. При гострому ураженні легень, модельованому введенням хлоридної кислоти, має місце дисбаланс системи фактору некрозу пухлин- α , який у більшій мірі проявляється зростанням концентрації даного цитокіну та ФНП-R1 у бронхоальвеолярному змиві у міру прогресування захворювання.

5. Впродовж першої доби у щурів на тлі гострого ураження легень відбуваються дещо різні явища раннього та пізнього апоптозу чи некрозу, що проявляється наростанням деструктивних змін нейтрофільних гранулоцитів по типу пізнього апоптозу чи некрозу у перші 6 год ураження з наступним сповільненням цих процесів та активацією раннього апоптозу, який досягає максимальних значень через 24 год експерименту. Такі зміни можна пояснити прямою пошкоджуючою дією хлоридної кислоти на альвеолярний епітелій, що зумовлює розвиток некротичних процесів у легенях у перші години ураження.

6. В ініціації першого етапу апоптозу на тлі хлоридного гострого ураження легень відіграють система фактору некрозу пухлин- α та реакції вільнорадикального окиснення. Встановлено виражений проапоптичний ефект ФНП- α , який вказує на те, що чим більше нейтрофілів мають на своїй

поверхні мембранозв'язуючі рецептори ФНП- α типу 1, тим імовірніше їх залучення в апоптоз. Також знижується трансмембранний потенціал мітохондрій, внаслідок чого посилюється перехід електронів на кисень, тим самим підвищуючи кількість внутрішньоклітинних активних форм кисню, що веде до необоротних змін у клітині.

7. При порівнянні результатів каспазного шляху апоптозу виявлено, що незважаючи на прогресивне зростання активності каспази-3 у гомогенаті легень, у плазмі крові активність цистеїнової протеїнази залишається практично незмінною, що обумовлено різним рівнем проапоптогенних сигналів у крові та легенях і різною кількістю клітин, що несуть на собі апоптогенні рецептори.

Основні положення і висновки, викладені в цьому розділі, опубліковані в наукових працях автора [445-456].

РОЗДІЛ 6

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕГЕНЬ ЗА УМОВ ДІЇ НЕКРОЗО-АПОПТИЧНИХ ФАКТОРІВ ЇХ ГОСТРОГО УРАЖЕННЯ

6.1 Патоморфологічна характеристика легень на тлі експериментального гострого ураження хлоридною кислотою

Респіраторний відділ легень є важливим компонентом системного гомеостазу. При різноманітних патологічних станах, що зумовлюють ряд деструктивних і дистрофічних змін в органах системи дихання, респіраторний відділ виявляє широкі компенсаторні властивості. Проте під дією деяких факторів як екзо-, так і ендogenous характеру може виникати неспецифічна реакція інтактних легень у вигляді ГУЛ, який зумовлений ушкодженням ендотелію мікросудин легень активними медіаторами запалення та дефіцитом сурфактанту, що призводить до прогресуючої гіпоксемії, яка виникає внаслідок зниження податливості легень, блоку дифузії кисню через альвеоло-капілярну мембрану, венозно-артеріального шунтування крові, що потребує респіраторної підтримки та інших методів корекції киснево-транспортної функції крові [457, 458].

Дані про морфологічні зміни в легенях при ГУЛ представлені лише в окремих роботах, які присвячені гострому респіраторному дистрес-синдрому [459, 460]. Проте немає даних про послідовність розвитку змін структурної організації легень при ГУЛ, що обумовлює необхідність даного дослідження для обґрунтування встановлених лабораторних змін у легенях та БАЗ.

При гістологічному дослідженні легеневої тканини через 2 год після моделювання ГУЛ нами виявлено, що структура легеневої тканини певний час залишалась збереженою. Міжальвеолярні перетинки потовщувались незначно. Дрібні судини і судини середнього калібру розширювались та були повнокровними (рис. 6.1).

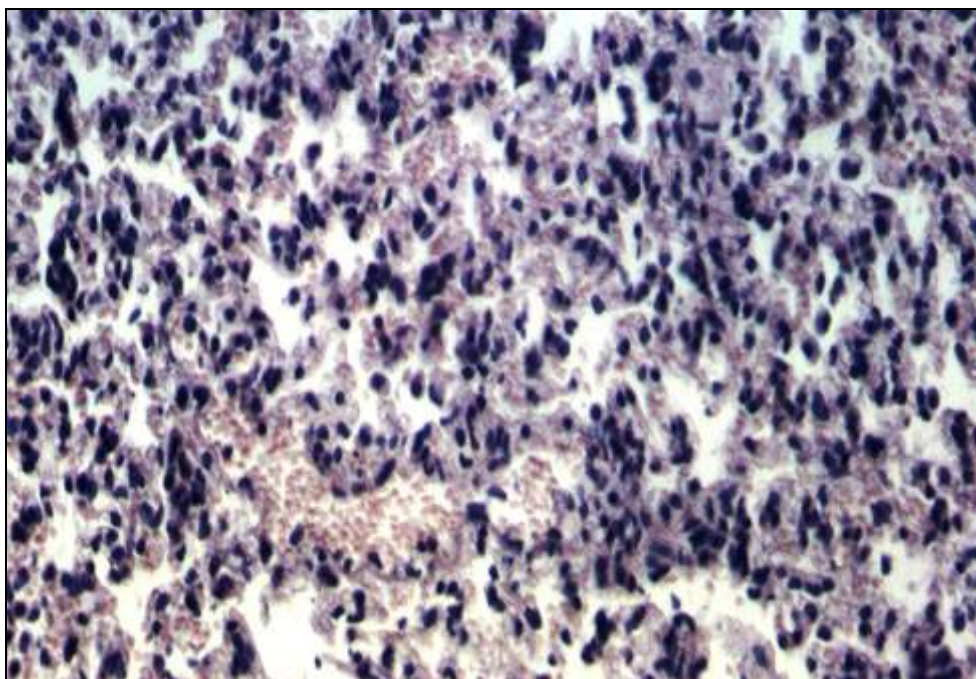


Рис. 6.1. Гістологічна структура легеневої тканини щура, 2 год гострого ураження легень. Розширення просвіту дрібних судин і їх повнокров'я. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

У периваскулярних просторах та у просвітах альвеол виявлялася незначна кількість еритроцитів. При цьому набряк легеневої тканини не розвивався. Судини середнього калібру були дещо розширеними, проте не містили еритроцитів (рис. 6.2)

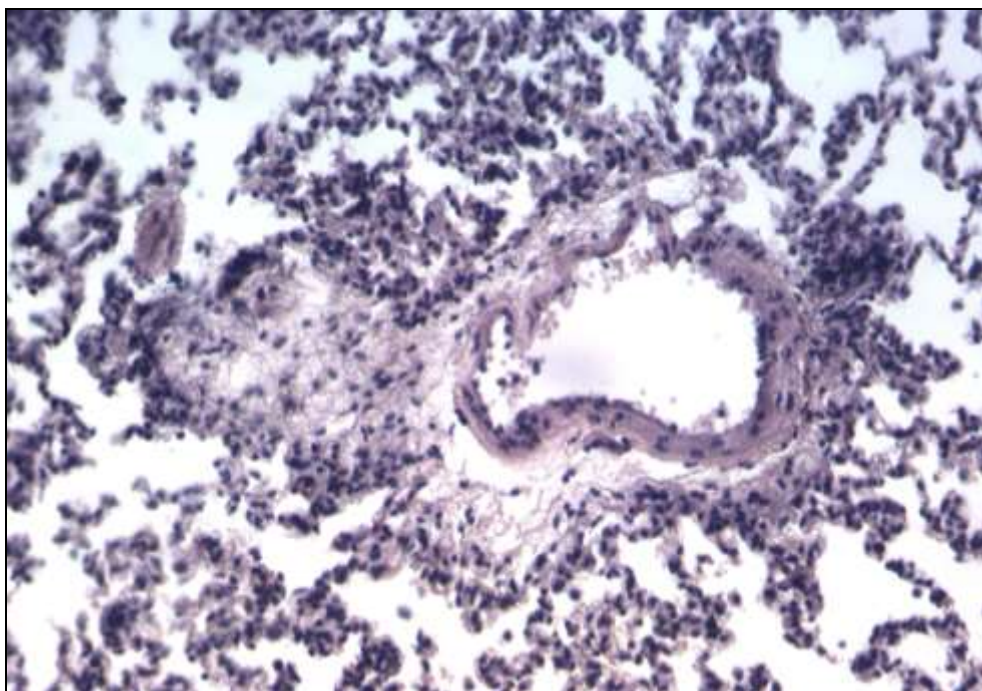


Рис. 6.2. Помірна дилатація судини середнього калібру. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

У периваскулярному просторі мали місце набрякові явища. Альвеолоцити змінювались мало, практично усі клітини містили ядра.

У ранні терміни після моделювання ГУЛ відмічалися зміни з боку тканинних елементів бронхів різного калібру (рис. 6.3).

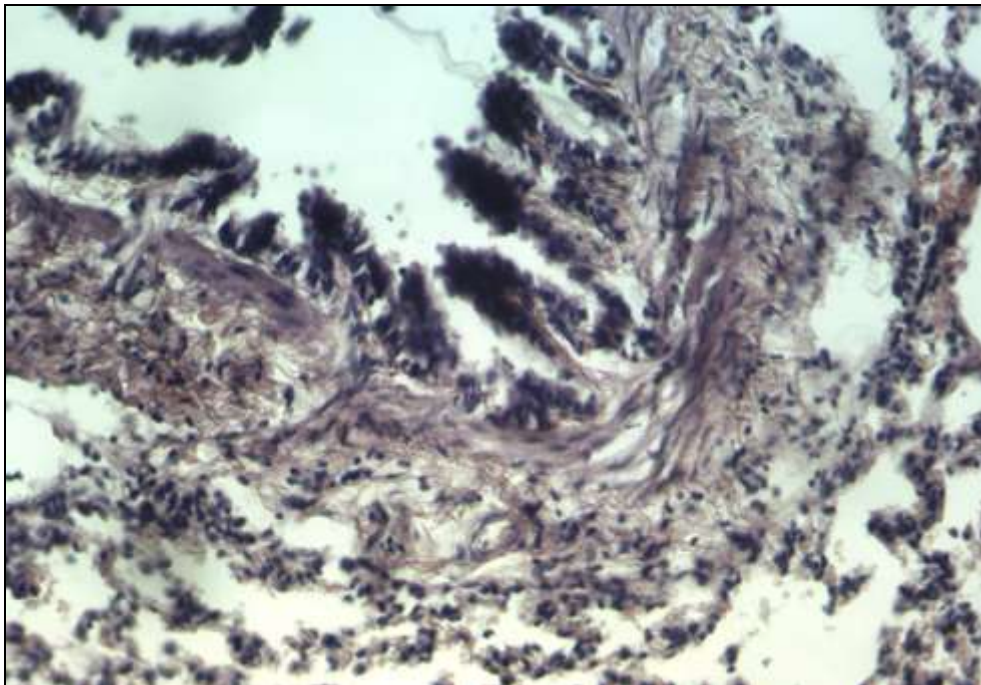


Рис. 6.3. Фрагмент стінки внутрішньолегеневого бронха. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

При цьому в епітеліальному шарі слизової оболонки спостерігався набряк із вираженими геморагічними явищами. Епітелій на окремих ділянках злущувався у просвіт бронха. Також спостерігався набряк і помірна дезорганізація волокнистих структур, формування геморагічного випоту, який поширювався на всю товщину стінки. У перибронхіальному просторі проявлялась слабо виражена запальна реакція.

Судини перибронхіального простору незначно розширювались, містили невелику кількість еритроцитів, проте мав місце помірний периваскулярний набряк та незначна клітинна реакція (рис. 6.4).

Патологічні явища виявлено і у термінальних відділах бронхіального дерева. На поперечних зрізах бронхіол можна було побачити слабо виражені дистрофічні зміни поверхневого епітелію та незначну клітинну перибронхіальну реакцію (рис. 6.5, 6.6).

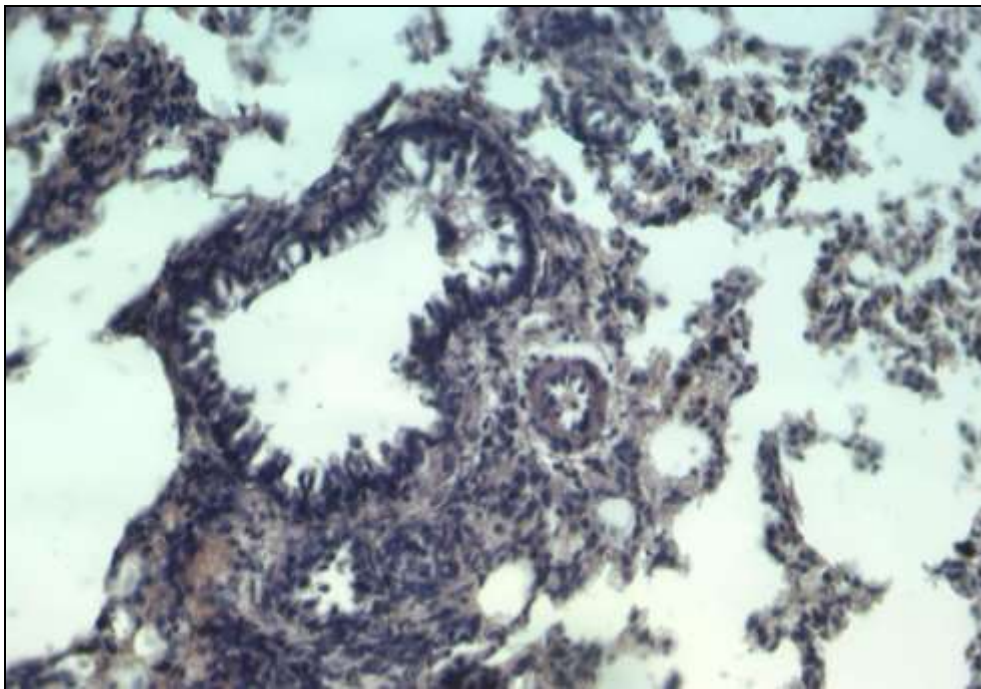


Рис. 6.4. Помірна дилатація перибронхіальних судин, периваскулярний набряк та незначна клітинна реакція. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

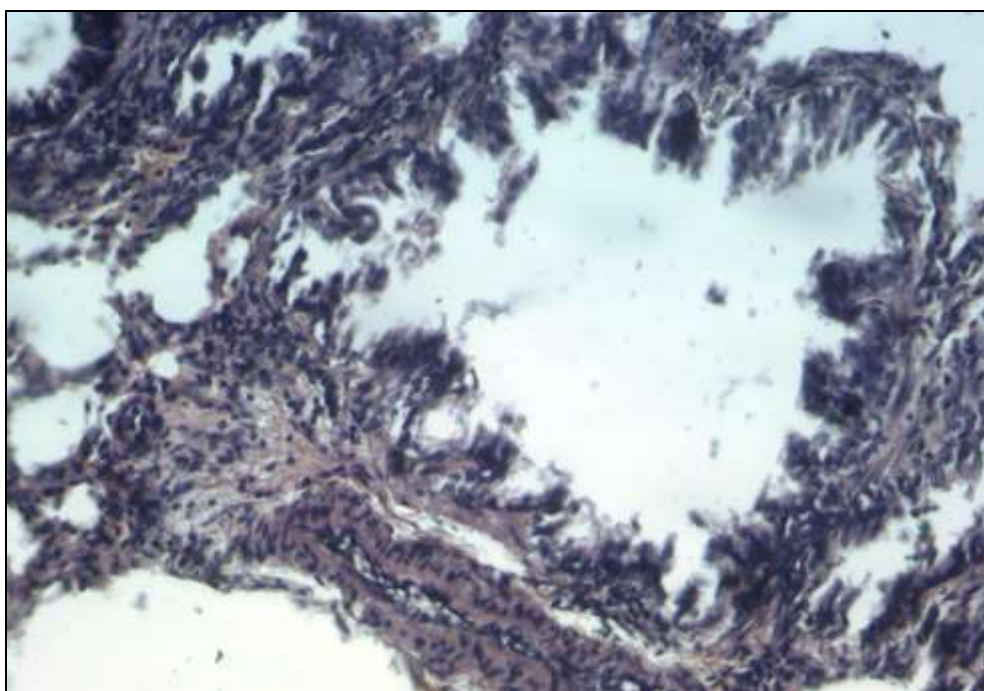


Рис. 6.5. Гістологічна структура легеневої тканини щура через 2 год після гострого ураження легень – бронхіола на поперечному зрізі. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

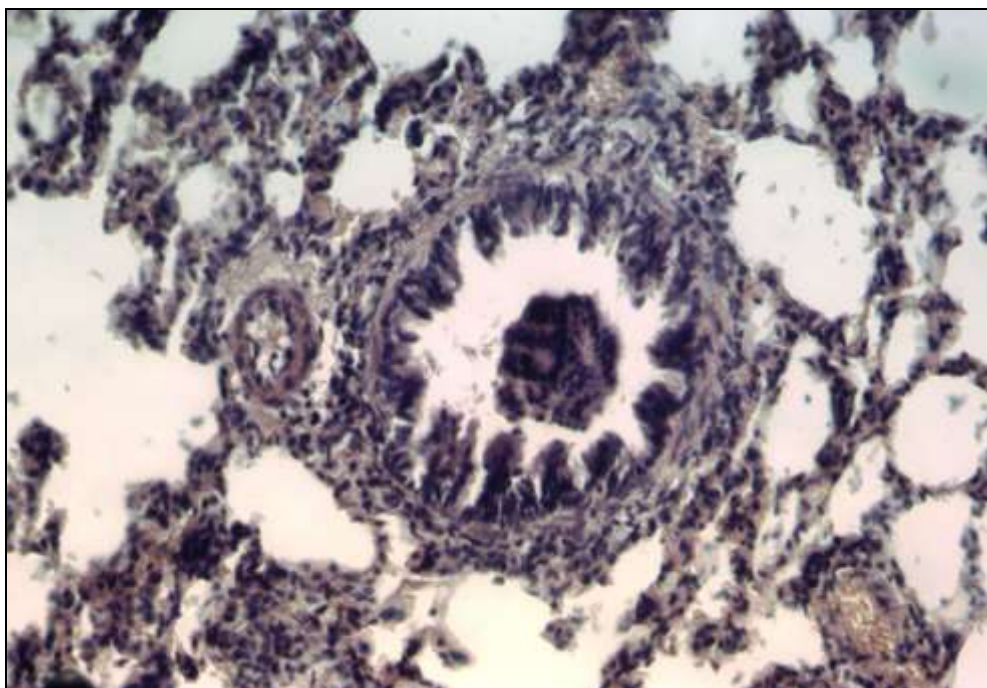


Рис. 6.6. Гістологічна структура легеневої тканини щура через 2 год після ГУЛ – бронхіола на поперечному зрізі. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

При гістологічному дослідженні легеневої тканини щурів, виведених із експерименту через 6 год після моделювання ГУЛ, спостерігалось часткове потовщення міжальвеолярних перетинок за рахунок появи у них лімфогістіоцитарних інфільтратів та еритроцитів (рис. 6.7).

Відмічався спазм судин дрібного калібру, малокрів'я, в окремих полях зору спостерігався помірний периваскулярний набряк (рис. 6.8).

Судини великого калібру були розширені, повнокровні, мав місце набряк субендотеліального шару і м'язової оболонки із частковим розшаруванням структурних елементів стінки судини, у периваскулярних просторах також спостерігався виражений набряк та запальна інфільтрація у вигляді скупчення сегментоядерних лейкоцитів (рис. 6.9).

Мало місце вогнищеве розширення альвеол, яке поєднувалося з вогнищевими дистелектазами та мікроателектазами. У просвітах окремих альвеол візуалізувалися макрофаги, еритроцити та поодинокі сегментоядерні лейкоцити. Вени та венули були помірно розширені та повнокровні.

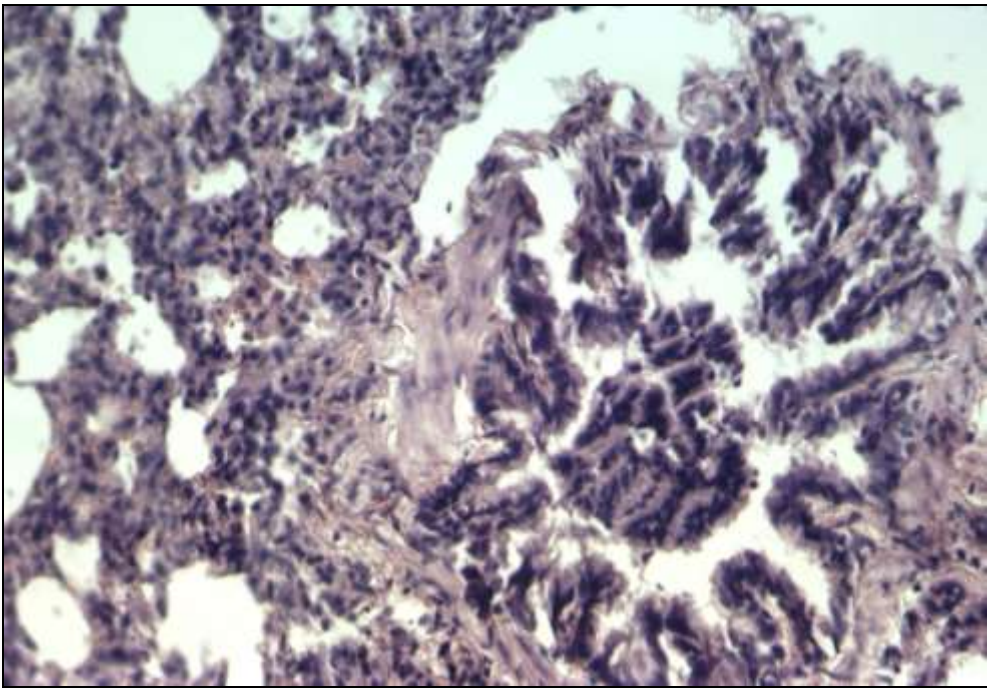


Рис. 6.7. Гістологічна структура легеневої тканини тварини на 6 год експерименту. Потовщення міжальвеолярних перетинок, спазм бронхіоли. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

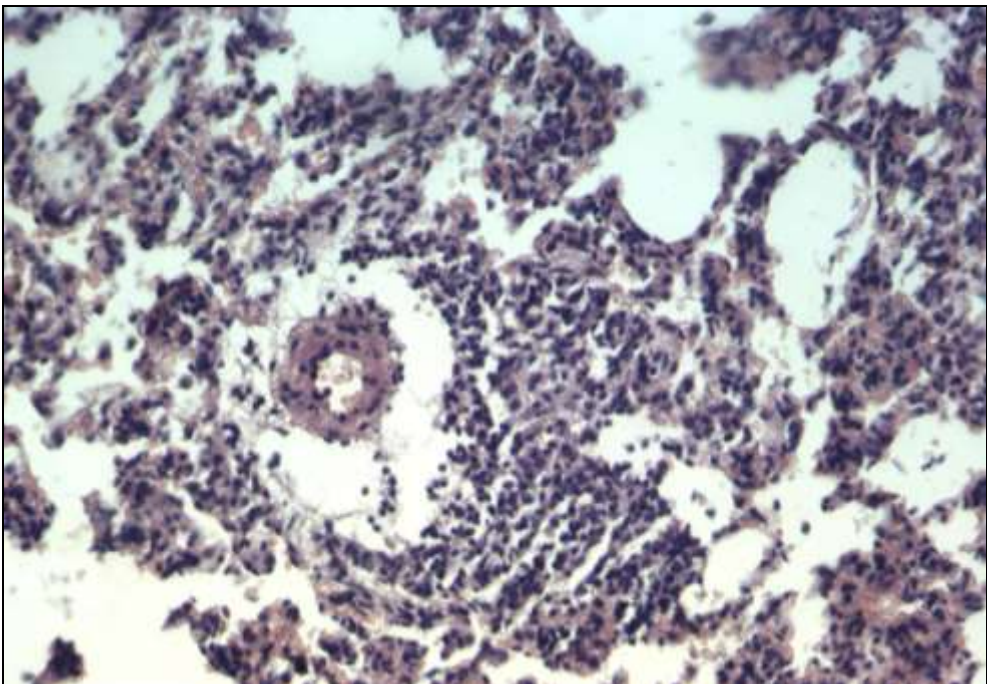


Рис. 6.8. Звуження просвіту дрібної кровоносної судини внаслідок вазоспазму, периваскулярний набряк. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

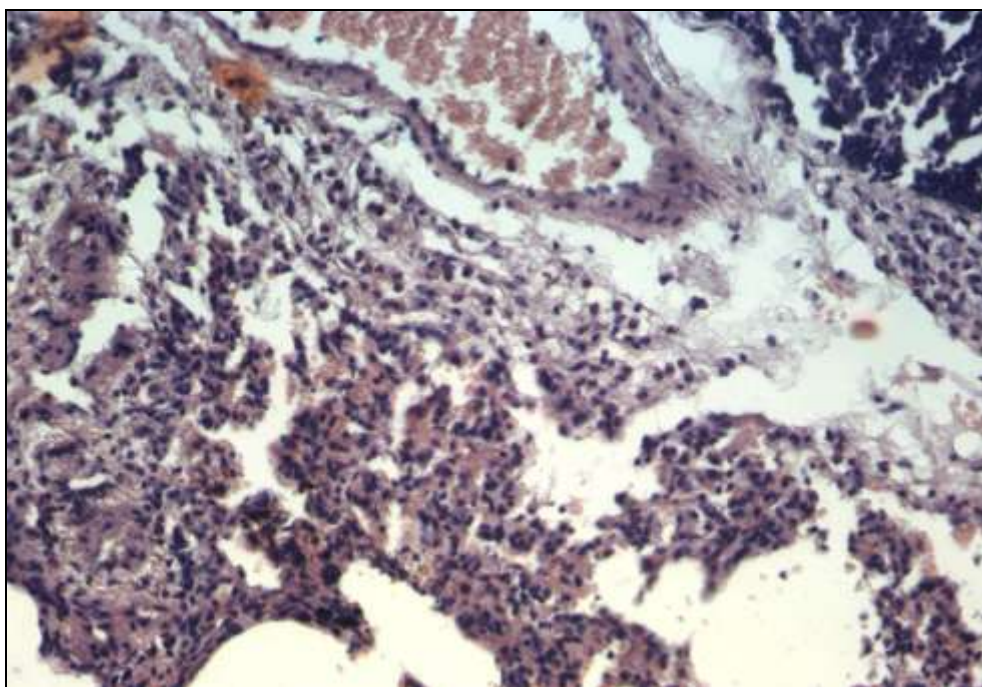


Рис. 6.9. Фрагмент кровоносної судини великого калібру – повнокров'я, периваскулярний набряк, запальна інфільтрація. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

Слизова оболонка внутрішньолегевених бронхів та бронхіол перебувала у фазі підвищеної секреторної активності, про що свідчила гіпертрофія клітин поверхневого епітелію. У просвіті як великих бронхів, так і бронхіол можна було спостерігати наявність секрету, злущених епітеліальних клітин, запального ексудату (рис. 6.10). У частині досліджуваних полів зору перераховані компоненти частково або повністю закривали просвіт бронхіол.

Спазм бронхіол візуально проявлявся посиленням складчатості слизової оболонки, а їх просвіт набував зірчастої форми (рис. 6.11); що обумовлювало зменшення об'єму повітроносних шляхів, наслідком чого був розвиток дистелектазів (рис. 6.12).

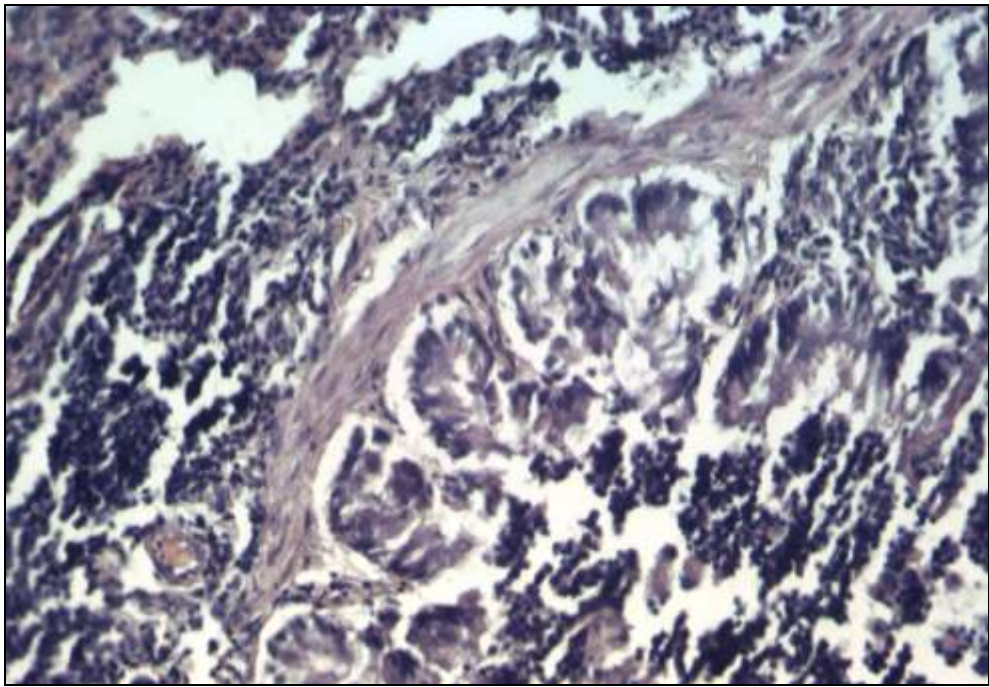


Рис. 6.10. Підвищена секреторна активність бронхіального епітелію. Запальний ексудат у просвіті бронхіоли. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

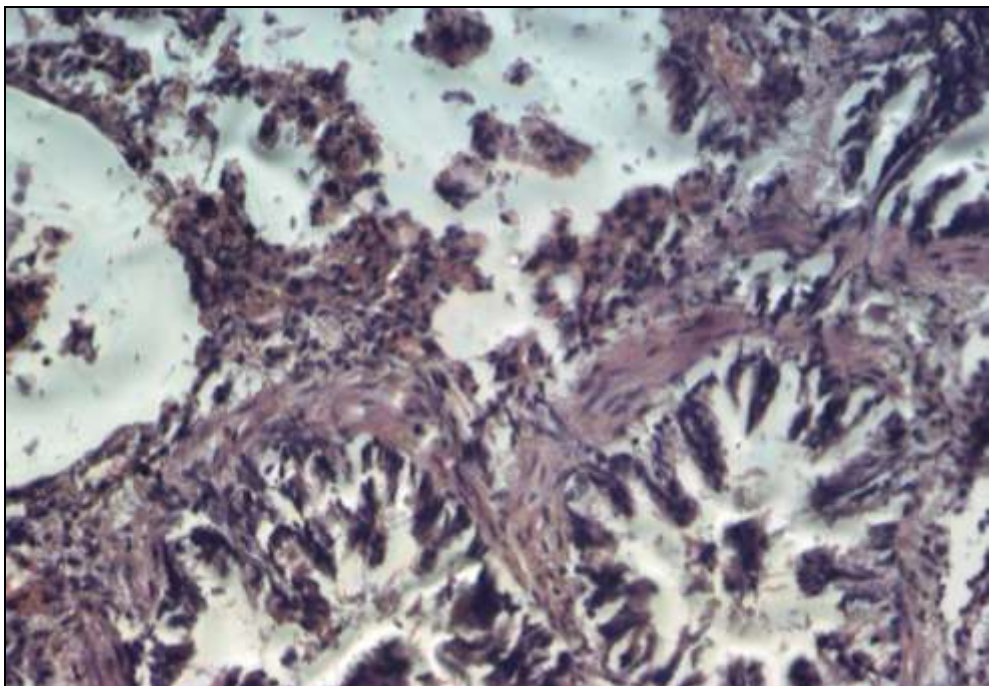


Рис. 6.11. Підсилена складчастість слизової оболонки бронхіол. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

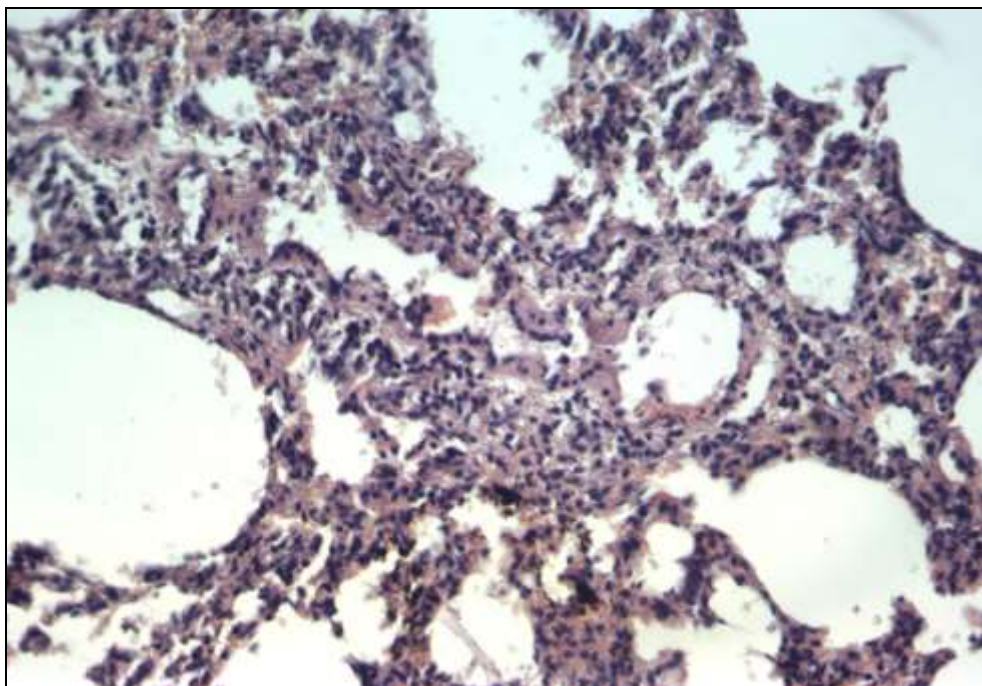


Рис. 6.12. Формування дистелектазів. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 180$.

На тих ділянках легень, де просвіти бронхів повністю закривалися секретом та злущеними епітеліальними клітинами виявлялися масивні ателектази. Поряд із цим розвивалися численні масивні альвеолярні крововиливи, в окремих альвеолах спостерігалось накопичення трансудату – розвивався набряк.

Паралельно в цей період експерименту у певній частині бронхів мало місце розширення просвіту, а слизова оболонка стоншувалась за рахунок зниження секреторної активності. Просвіти їх були вільними від ексудату та не містили еритроцитів (рис. 6.13).

У перибронхіальних ділянках спостерігалась незначна лімфогістіоцитарна інфільтрація міжальвеолярних перетинок, в яких також мав місце набряк та діapedезні точкові крововиливи (рис. 6.14). За таких умов в альвеолярних епітеліоцитах починали розвиватись дистрофічні зміни.

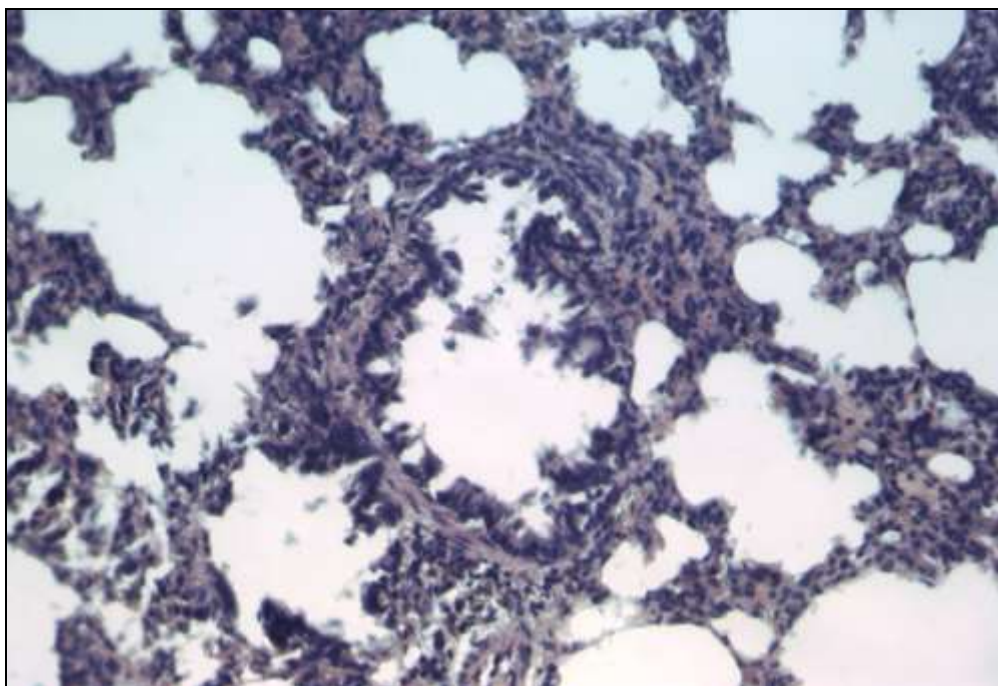


Рис. 6.13. Розширення просвіту бронха та стоншення слизової оболонки. Збарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

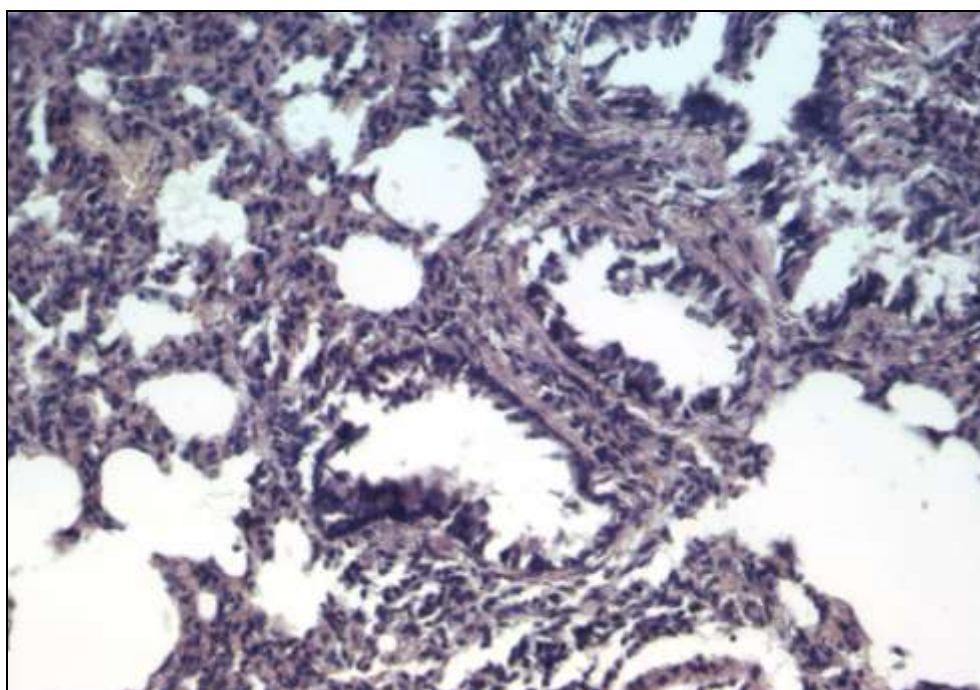


Рис. 6.14. Помірна лімфогістіоцитарна інфільтрація і набряк міжальвеолярних перетинок. Збарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

Патоморфологічна картина легеневої тканини щурів через 12 год після початку експерименту характеризувалася наступними особливостями (рис. 6.15).

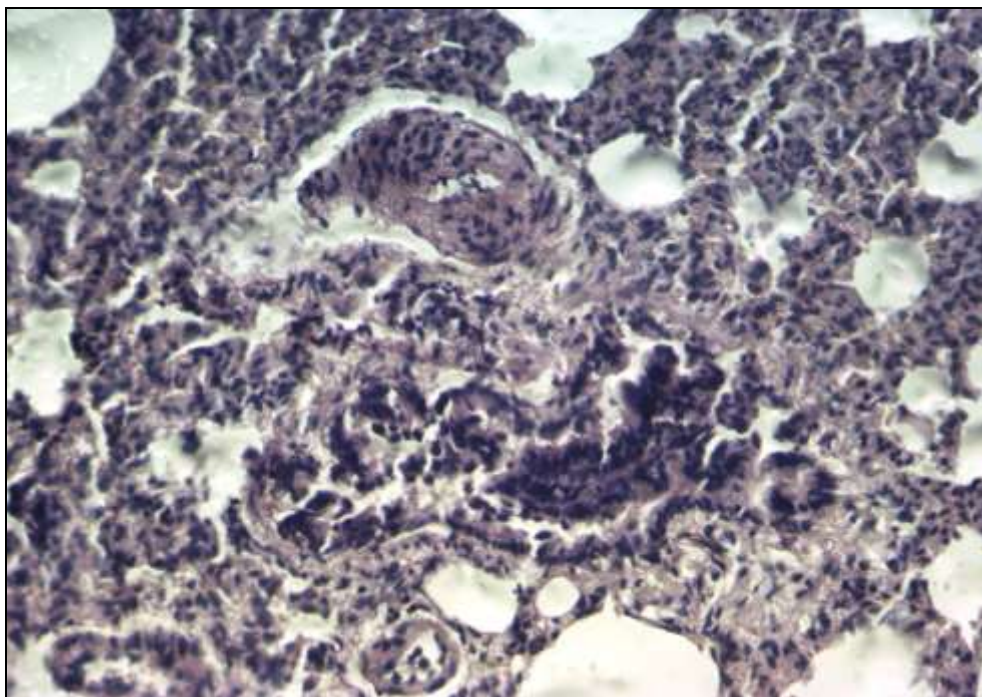


Рис. 6.15. Гістологічна структура легеневої тканини на 12 год експерименту. Потовщення міжальвеолярних перегородок, спазм дрібних судин. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

Виявлено потовщення міжальвеолярних перетинок за рахунок вираженого набряку та лімфогістіоцитарної інфільтрації. Судини дрібного калібру переважно були спазмованим, на що вказувало потовщення їх м'язової оболонки. Периваскулярно відмічався помірний набряк. Еритродіapedез був незначним. Просвіти бронхіол були спазмованими, тому візуалізувалися погано.

У перибронхіальних ділянках в окремих полях зору з'являлись лімфогістіоцитарні інфільтрати. Останні у поєднанні із лейкоцитарними інфільтратами місцями формували мікроабсцеси (рис. 6.16).

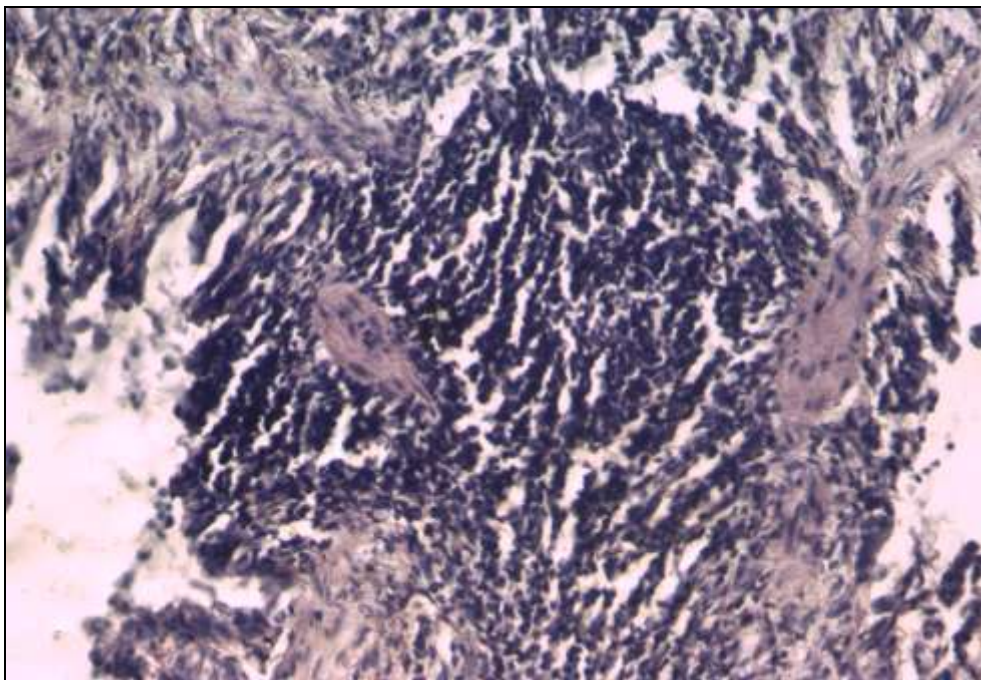


Рис. 6.16. Формування перибронхіального мікроабсцесу. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 180$.

Також спостерігалось розширення та повнокрів'я судин великого калібру (рис. 6.17), злущення ендотеліальної вистилки, що призводило до підвищення проникливості судинної стінки та периваскулярного набряку, який поширювався також і на перибронхіальні простори (рис. 6.18). Оточуюча тканина при цьому була помірно інфільтрованою лейкоцитами.

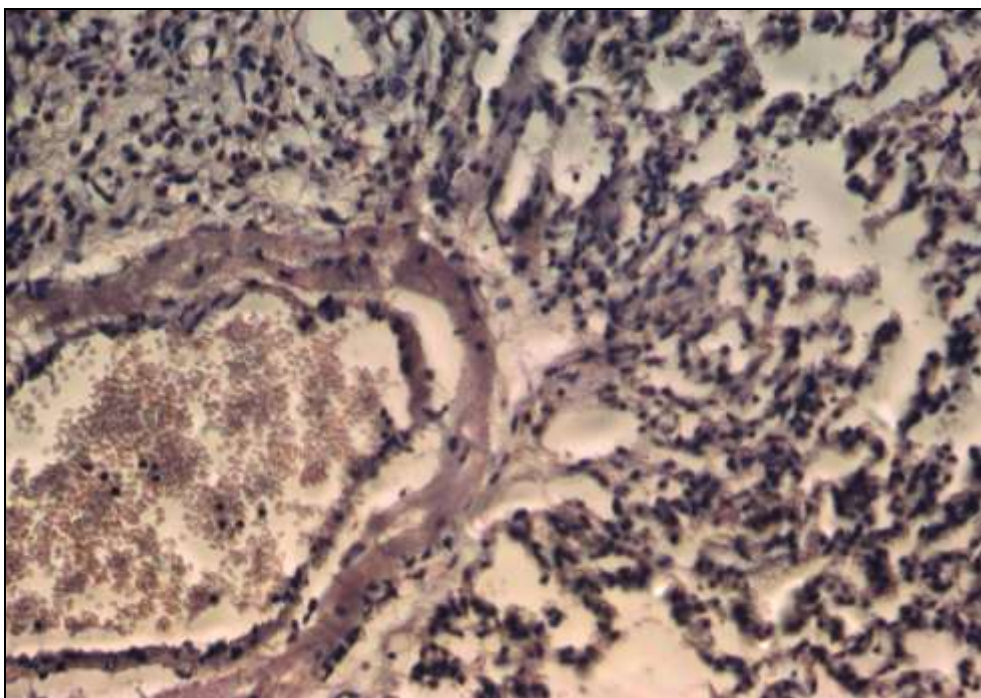


Рис. 6.17. Повнокров'я судини великого калібру, периваскулярний набряк. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 180$.

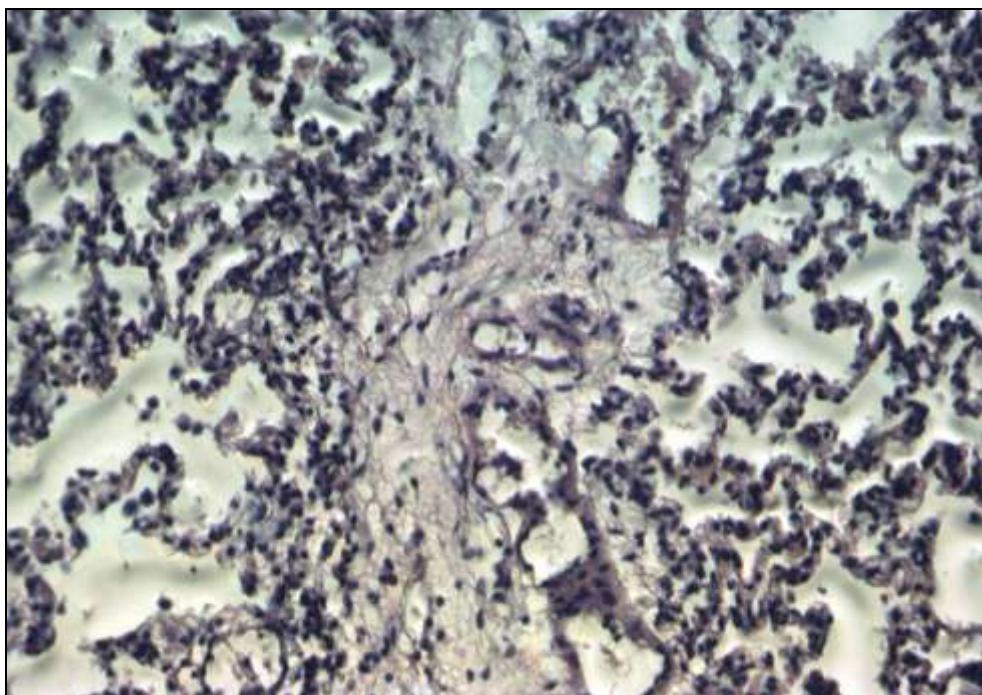


Рис. 6.18. набряк перибронхіальних структур. Збарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

Внаслідок порушення трофіки тканини в оточуючій тканині розвивались дистелектази, які проявлялись ділянками емфізематозного розширення ацинусів та ділянками їх спадання (рис. 6.19, 6.20). У просвіті бронхів містилася незначна кількість ексудату.

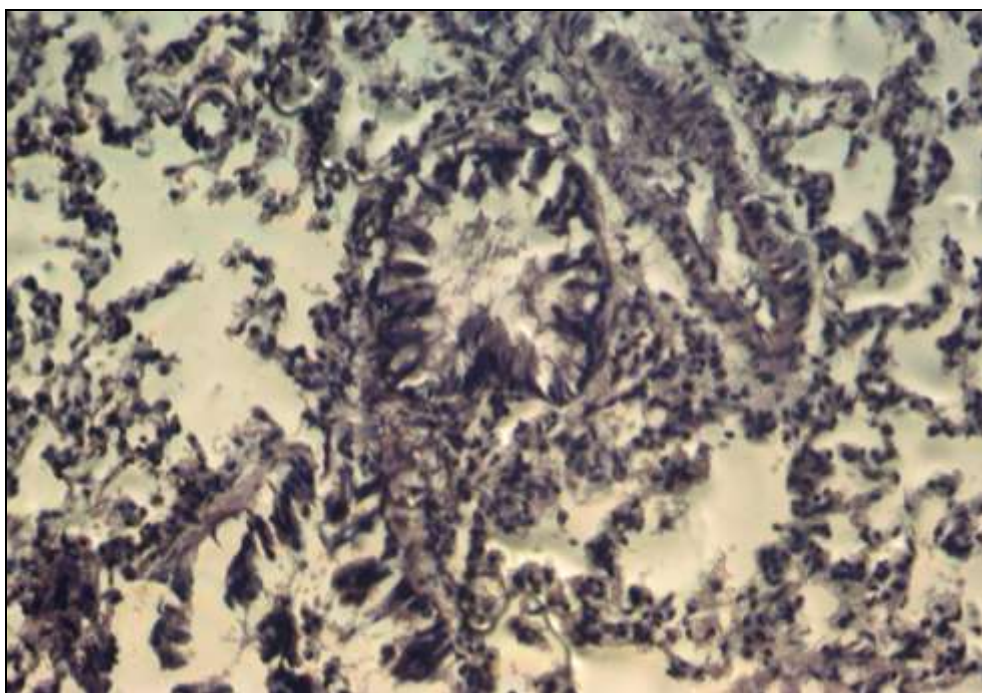


Рис. 6.19. Формування дистелектазів – ділянки емфізематозного розширення ацинусів та ділянки їх спадання. Збарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

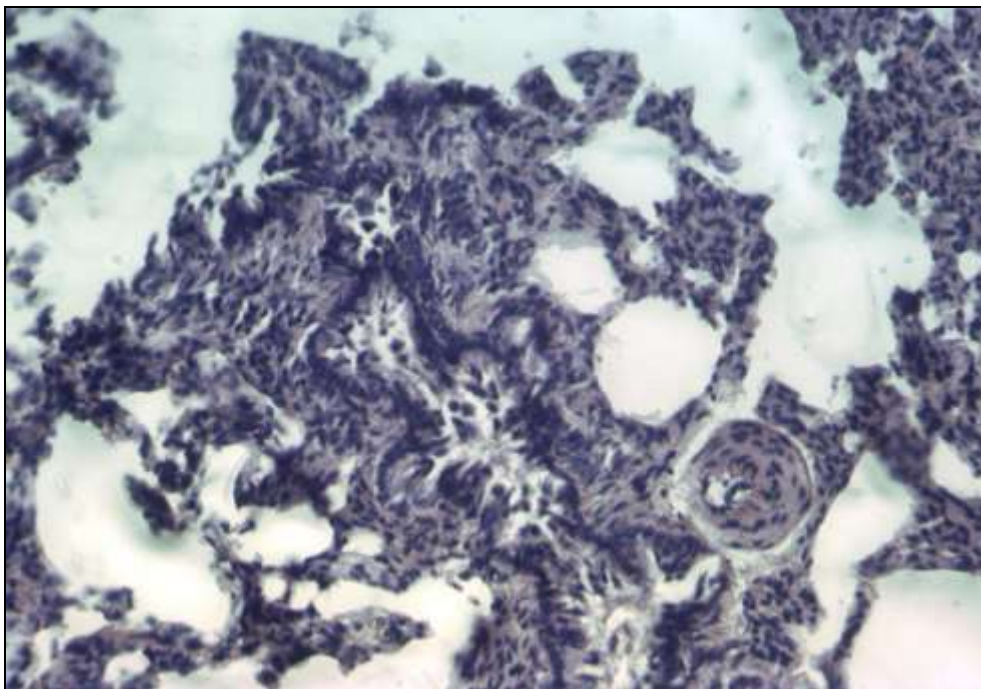


Рис. 6.20. Спазм бронха, формування дистелектазів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

У бронхах великого калібру спостерігалися дистрофічно-некротичні зміни поверхневого епітелію, які призводили до його десквамації у просвіт (рис. 6.21). У подальшому розвивалися обструктивні явища (рис. 6.22), які сприяли формуванню дистелектазів.

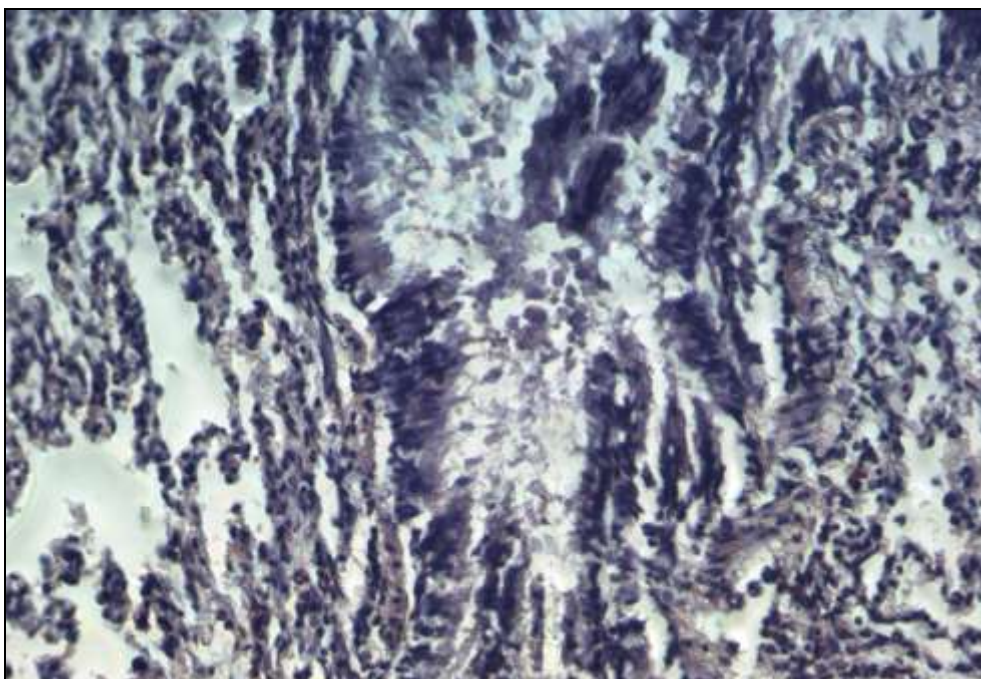


Рис. 6.21. Дистрофічно-некротичні зміни епітелію бронха та його десквамація. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

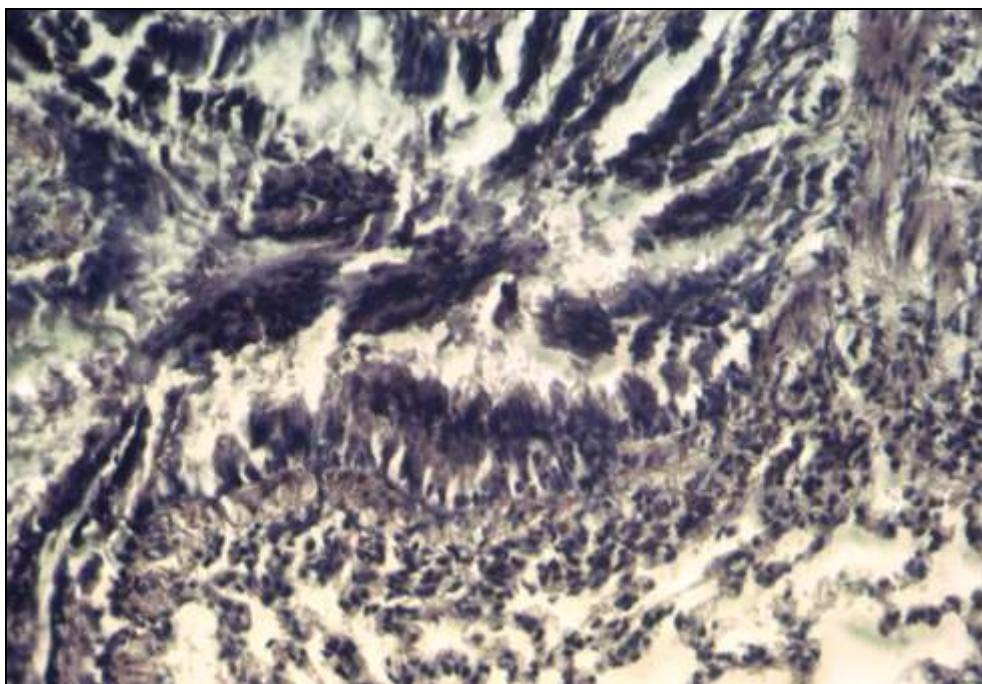


Рис. 6.22. Обструкція бронха. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

Альвеолярний епітелій також зазнавав десквамації, у просвітах ацинусів виявлялися злуцені епітеліоцити та поодинокі еритроцити, в окремих полях зору виявлено серозний ексудат.

При гістологічному дослідженні легеневої тканини на 24 год експерименту спостерігали потовщення міжальвеолярних перетинок за рахунок дифузної лімфогістіоцитарної інфільтрації та розширення і повнокров'я судин дрібного калібру (рис. 6.23).

Просвіти альвеол у переважній більшості були вільними від ексудату та злучених епітеліоцитів. Ділянки альвеол, що спалися, поєднувались із осередками емфізематозного розширення, при цьому міжальвеолярні перетинки стоншувались та розривались (рис. 6.24).

У перибронхіальних зонах проникність судин дрібного калібру збільшувалась, що призводило до дрібних діapedезних крововиливів, які просочували легеневу тканину (рис. 6.25).

Навколо розширених та повнокровних судин спостерігався периваскулярний набряк та накопичувались лейкоцити (див. рис. 6.26).

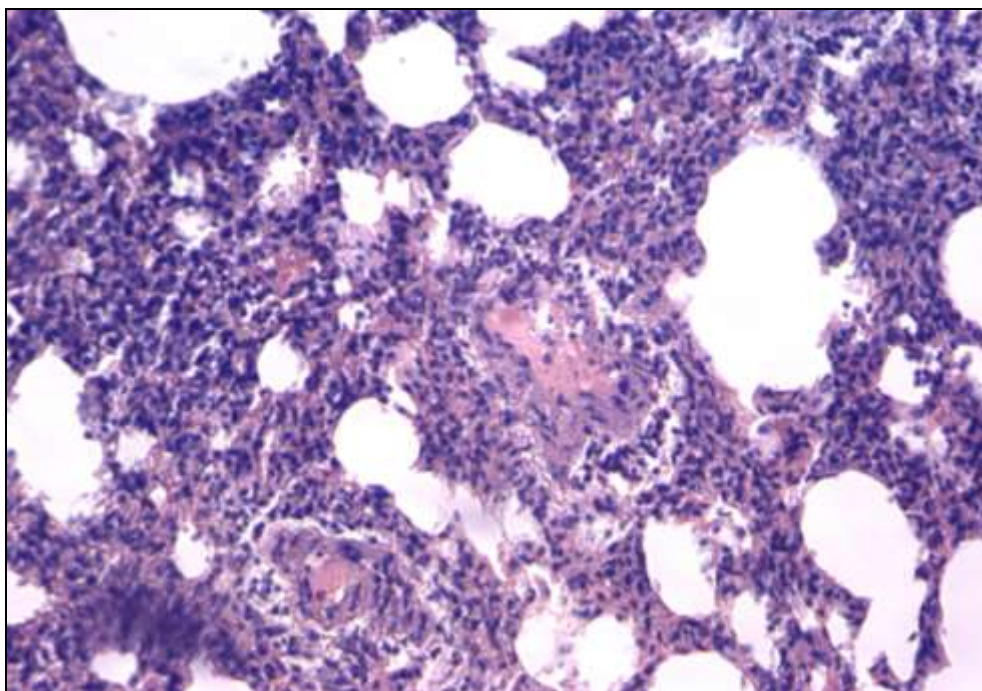


Рис. 6.23. Гістологічна структура легеневої тканини щура через 24 год після ГУЛ. Потовщення міжальвеолярних перетинок за рахунок дифузної лімфогістіоцитарної інфільтрації, розширення і повнокров'я дрібних судин. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

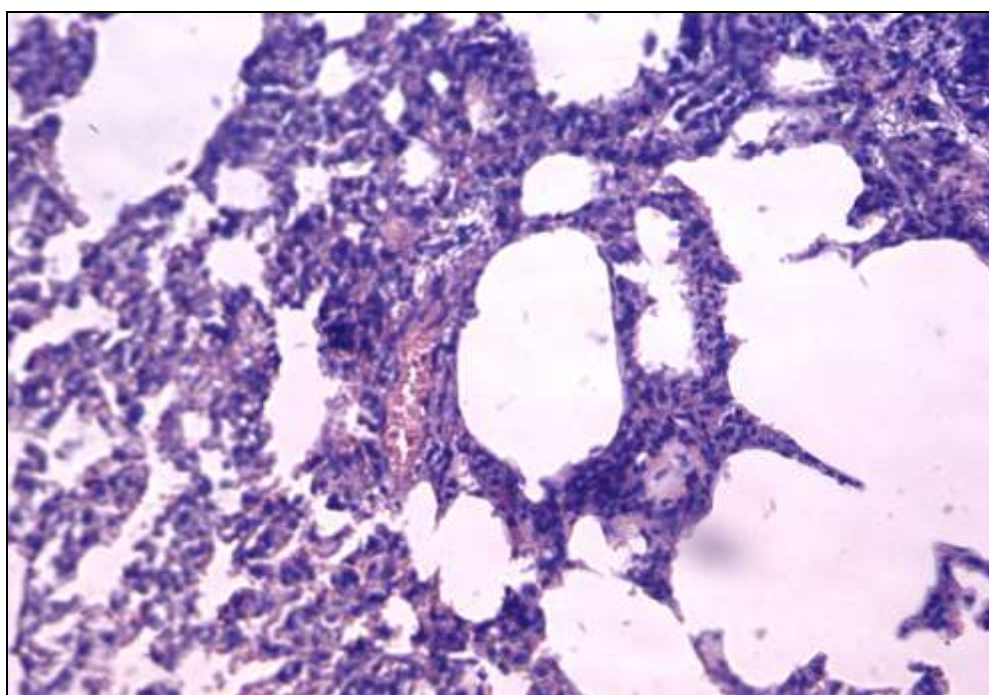


Рис. 6.24. Ділянки емфізематозного розширення альвеол. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

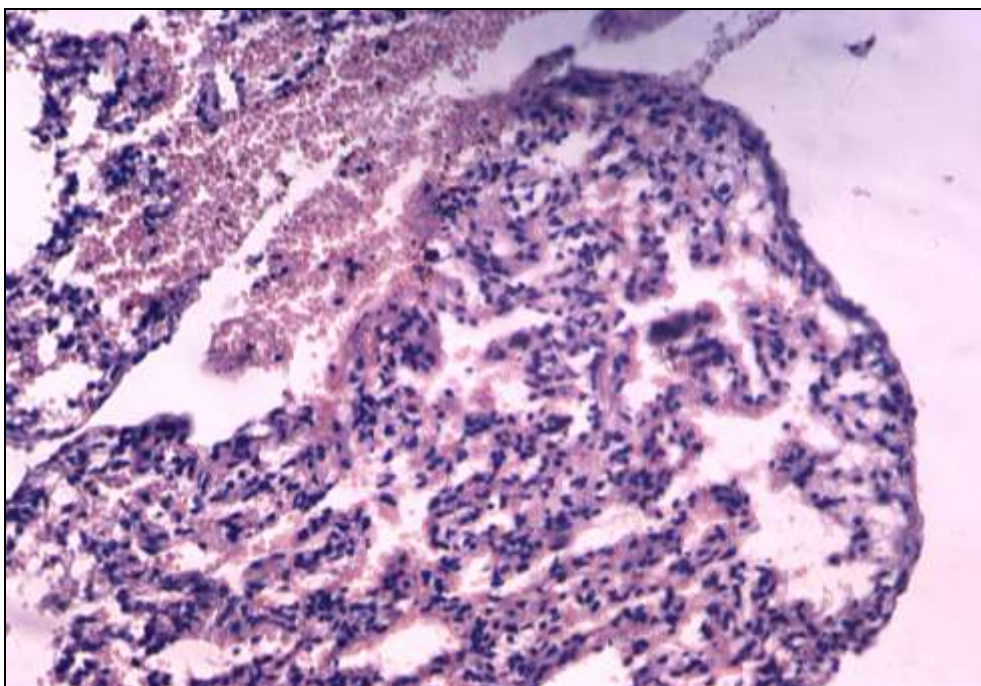


Рис. 6.25. Діapedезні периваскулярні крововиливи. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

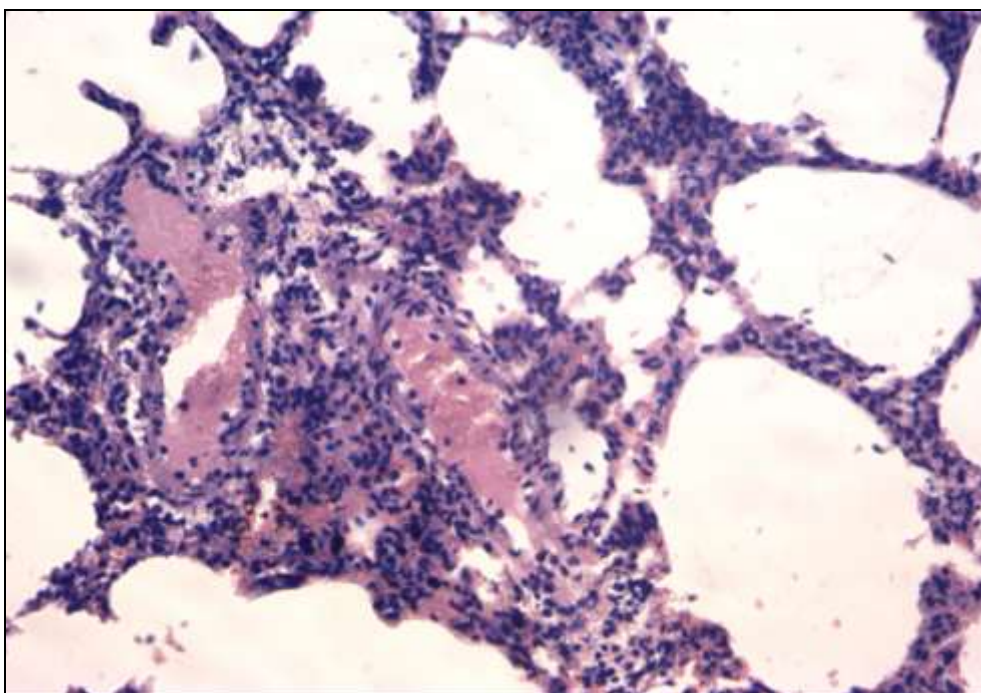


Рис. 6.26. Гістологічна структура легеневої тканини щура через 24 год після ГУЛ. Гострі розлади кровообігу, периваскулярний набряк. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

У стромальних структурах навколо бронхів відмічалися набряк і дезорганізація сполучнотканинних елементів, що візуально проявлялося збільшенням їх площі (рис. 6.27). Також тут мала місце клітинна інфільтрація гострозапального характеру.

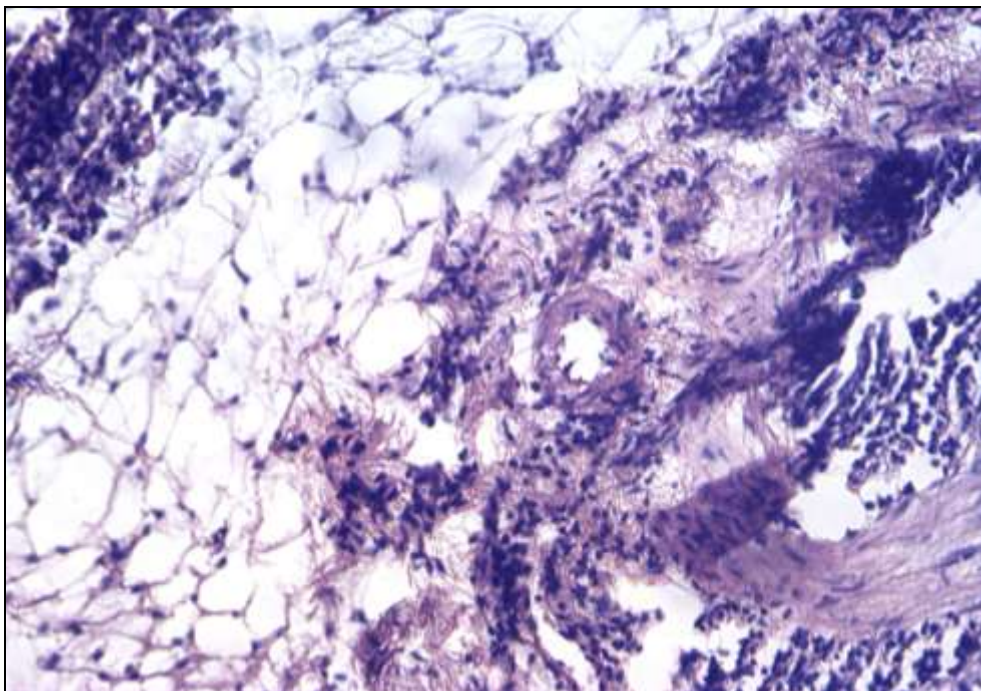


Рис. 6.27. набряк перибронхіальних стромальних елементів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

У просвіті бронхів містилася невелика кількість серозного ексудату та поодинокі злуцнені епітеліоцити (рис. 6.28, 6.29). Слизова оболонка бронхів перебувала у фазі підвищеної секреторної активності, спостерігались також слабо виражені дистрофічні зміни епітеліальних клітин (рис. 6.30).

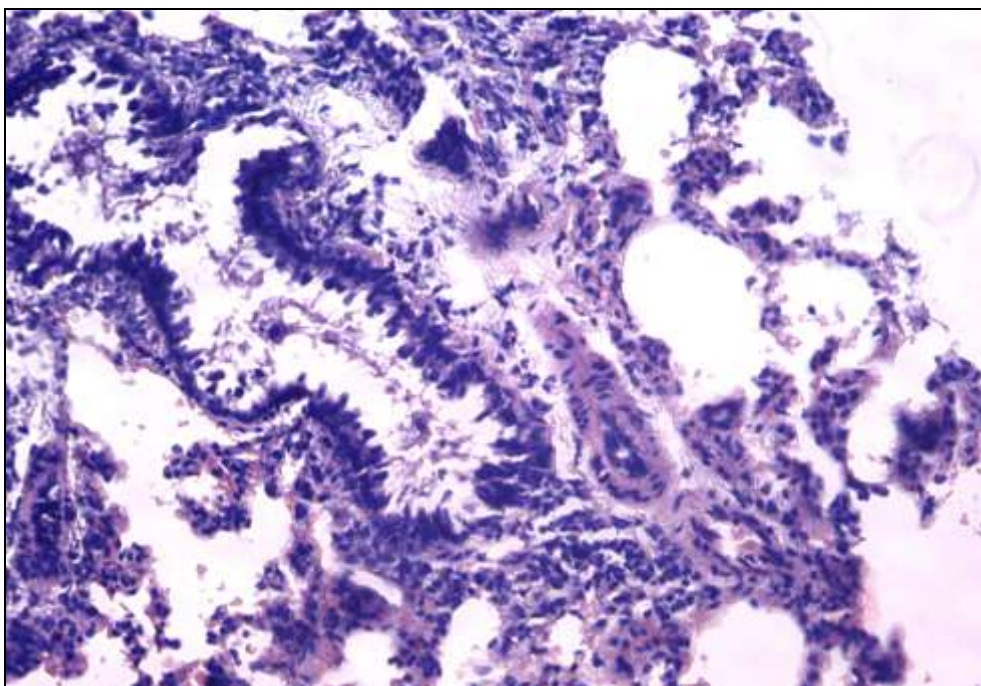


Рис. 6.28. Поодинокі десквамовані епітеліоцити у просвіті внутрішньолегеневого бронха. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

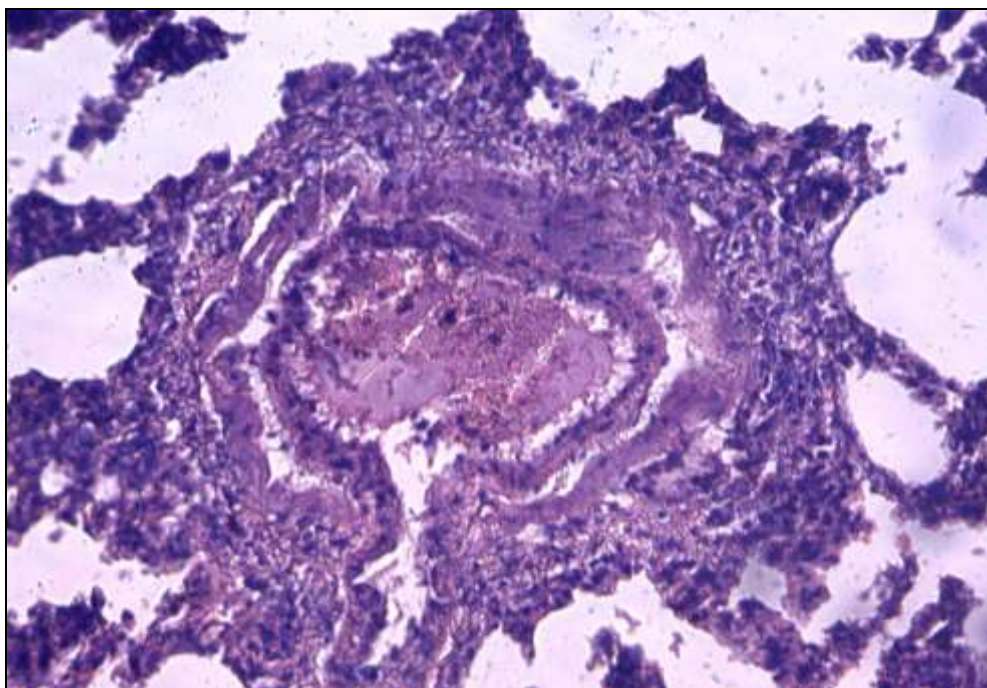


Рис. 6.29. Серозний ексудат із вмістом злущених епітеліоцитів у просвіті внутрішньолегеневого бронха. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

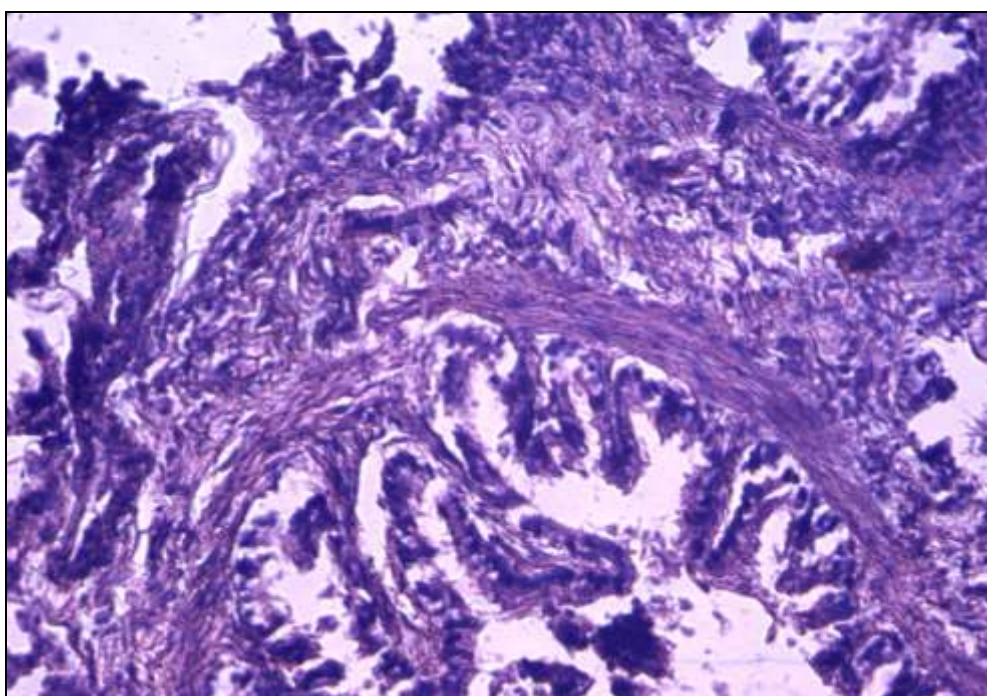


Рис. 6.30. Ознаки підвищеної секреторної активності слизової оболонки бронха, слабо виражені дистрофічні зміни епітеліоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що у щурів, яким інтратрахеально вводили хлоридну кислоту, вже через 2 год експерименту розвивалися специфічні для ГУЛ ознаки: міжальвеолярні

перетинки характеризувалися повнокров'ям, набрякністю, інфільтрацією лімфогістіоцитами, еритроцитами та паличкоядерними нейтрофільними гранулоцитами крові; вогнищево зустрічалися сегментоядерні лейкоцити; ділянки емфізематозно зміненої легеневої тканини; дрібні бронхи вогнищево були з вираженими дистрофічними змінами поверхневого епітелію, у просвіті деяких визначалися секрет або злущений епітелій; виявлялось вогнищеве розширення альвеол, у легеневій тканині відмічалися розлади мікроциркуляції; у судинах легеневого мікроциркуляторного русла виявлялося повнокров'я, формувались складжі.

Встановлені морфологічні зміни у респіраторному відділі легень щурів з НСІ-індукованим ГУЛ вказували на пряму залежність структурних змін легень від тривалості захворювання, що проявлялося наростанням набряку легень, потовщенням міжальвеолярних перетинок та прогресуванням гіпоксії впродовж першої доби захворювання.

6.2 Морфометричні аспекти структурно-функціональних змін легень за умов дії факторів їх гострого ураження

Морфометричний аналіз, порівняно з візуальним вивченням і описом гістологічних препаратів, дає змогу більш структуровано дослідити стан тканин організму та аргументовано пояснити характер наявних патологічних змін. Числові дані можна вважати об'єктивними критеріями оцінки морфо-функціонального стану не лише окремих елементів органів і систем організму, але й стану біологічної системи в цілому [457]. Все зазначене в повній мірі стосується і дослідження легень, тому гістоморфометрія знайшла широке застосування при вивченні цього органу [461, 462].

Результати мікроморфометричного дослідження легеневої тканини експериментальних тварин у нормі та в різні терміни після моделювання ГУЛ представлені в таблиці 6.1. Встановлено, що у щурів контрольної групи ширина міжальвеолярної перегородки становила $(23,8 \pm 1,4)$ мкм, об'ємна

частка пневматизованого простору легеневої тканини ($21,5 \pm 1,2$) %, відносна товщина стінки бронха ($14,7 \pm 0,7$) %. Стан кровоносного русла легень характеризувався наступними показниками: відносна площа кровоносних судин ($9,7 \pm 1,0$) %, відносна товщина судинної стінки ($13,1 \pm 0,9$) %.

Таблиця 6.1

Морфометричні показники тканини легень щурів при їх гострому ураженні хлоридною кислотою ($M \pm m$)

| Морфометричні показники | Групи спостережень | | | | |
|-------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| | I (контроль), n=12 | II (2 год.), n=12 | III (6 год.), n=12 | IV (12 год.), n=12 | V (24 год.), n=12 |
| ШМП, мкм | 23,8±3,4 | 26,1±3,1 | 31,7±3,9 | 38,0±4,5 # | 40,3±4,6 **/# |
| ОЧПП, % | 21,5±2,8 | 30,1±3,0 * | 19,7±2,2 | 17,4±1,8 ### | 14,1±1,7 */### |
| ВТСБ, % | 14,7±1,7 | 16,9±1,6 | 18,3±2,0 | 21,1±1,9 * | 19,5±2,4 |
| ВПКС, % | 9,7±1,0 | 20,9±2,3 *** | 6,4±0,7 **/### | 8,3±0,9 ### | 17,2±2,0 ** |
| ВТСС, % | 13,1±0,9 | 11,0±0,7 | 15,3±1,1 | 15,9±1,3 ## | 11,9±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 1-ю досліджуваною групою).

Як уже згадувалося вище, при гістологічному вивченні легеневої тканини у тварин 2-ої досліджуваної групи після моделювання HCl-індукованого ГУЛ, виявлено потовщення міжальвеолярних перегородок, обумовлене їх набряком та вогнищевою лімфогістіоцитарною інфільтрацією. Це знайшло своє відображення у зміні відповідного морфометричного показника – ширини міжальвеолярної перегородки, яка збільшилася на 9,7 % і становила ($26,1 \pm 3,1$) мкм. З плином часу набряк наростає, інтенсивність лімфогістіоцитарної інфільтрації збільшувалася, набуваючи дифузного характеру у 4-й та 5-й досліджуваних групах. У легенях тварин цих груп (тобто через 12 і 24 год від початку експерименту) також спостерігалися

крововиливи у міжальвеолярні перегородки. Все це спричинило подальшу інтенсифікацію величини ШМП: у 3-ій досліджуваній групі вона дорівнювала $(31,7 \pm 3,9)$ мкм, у 4-ій групі – $(38,0 \pm 4,5)$ мкм, у 5-ій групі – $(40,3 \pm 4,6)$ мкм.

Таким чином, приріст зазначеного морфометричного показника відносно контролю складав 33,2 % через 6 год, 59,7 % через 12 год, 69,3 % через 24 год. При цьому у 4-ій та 5-ій групах відмінність від контрольних параметрів була статистично достовірною – $p < 0,05$ і $p < 0,01$ відповідно.

Характер пертурбацій об'ємної частки пневматизованого простору легеневої тканини відрізнявся від описаної вище лінійної динаміки змін ШМП, що наочно продемонстровано на діаграмі (рис. 6.31).

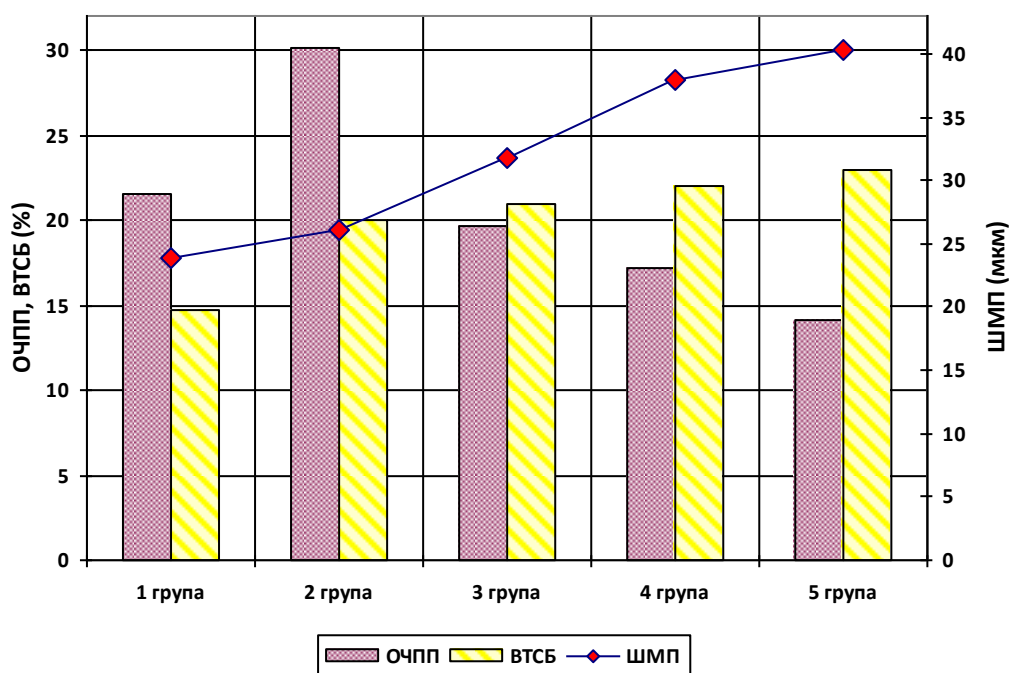


Рис. 6.31. Динаміка морфометричних параметрів легеневої тканини при НСІ-індукованому моделюванні ГУЛ.

Так, у тварин 2-ої досліджуваної групи ОЧП збільшувалася на 8,6 %, сягаючи $(30,1 \pm 3,0)$ %, що цілком узгоджувалося з мікроскопічною картиною, яку спостерігали при візуальному вивченні гістологічних препаратів: ділянки розширених альвеол (особливо у субплевральних відділах) із формуванням емфізематозних вогнищ. У той же час спостерігався і розвиток

набряку легень, що проявлялося накопиченням у просвіті альвеол рідини і білкових мас з домішками незначної кількості макрофагів, еритроцитів, поодиноких сегментоядерних лейкоцитів.

Через 6 год і пізніше значення ОЧПП у піддослідних щурів зменшувалося: на 1,8 % у 3-ій групі – до $(19,7 \pm 2,2)$ %, на 4,3 % у 4-ій групі – до $(17,4 \pm 1,8)$ %, на 6,8 % у 5-ій групі – до $(14,1 \pm 1,7)$ %. Слід зауважити, що цей морфометричний параметр у 3-ій та 5-ій групах спостережень статистично достовірно відрізнявся від контрольного ($p < 0,05$).

Причиною такої мінімізації ОЧПП стали структурні зміни легеневої паренхіми, насамперед формування масивних ателектазів у результаті порушення прохідності бронхіального дерева. Мікроскопічно при цьому виявлялася підсилена складчастість слизової оболонки бронхіол, зірчаста форма просвіту бронхів та їх обтурація секретом і десквамованими епітеліальними клітинами. Такі патоморфологічні зміни лежать в основі трансформацій наступного морфометричного показника – відносної товщини стінки дрібних бронхів – співвідношення поперечного розміру бронхіальної стінки до зовнішнього діаметру бронха.

ВТСБ після моделювання ГУЛ збільшувалася до 12 год після експерименту з подальшим незначним зменшенням на 24 год, однак при цьому вона залишалася суттєво більшою, ніж у інтактних тварин (див. рис. 6.31). Відносна товщина стінки бронхів через 2 год дорівнювала $(16,9 \pm 1,6)$ %, через 6 год – $(18,3 \pm 2,0)$ %, через 12 год – $(21,1 \pm 1,9)$ %, через 24 год – $(19,5 \pm 2,4)$ %. Тобто приріст величини ВТСБ становив 2,2 % у 2-ій досліджуваній групі, 3,6 % у 3-ій групі, 6,4 % у 4-ій групі, 4,8 % у 5-ій групі. При цьому у 4-ій дослідній групі, тобто на 12 год експерименту, різниця між значеннями вказаного морфометричного показника у групі порівняння і досліджуваній групі була статистично достовірною ($p < 0,05$). Структурною передумовою такого збільшення ВТСБ можна вважати гіпертрофію клітин поверхневого епітелію з підвищеною секреторною активністю слизової оболонки, набряк та запальну інфільтрацію (з переважанням макрофагів та

лімфоїдних клітин) стінки бронха. Причиною зменшення ВТСБ у 5-й експериментальній групі є, ймовірно, дистрофічно-некротичні зміни бронхіального епітелію з наступною його десквамацією.

Ремоделювання судинного русла легень в умовах НСІ-індукованого їх гострого ураження проявилось змінами відносної площі кровоносних судин та відносної товщини судинної стінки (рис. 6.32).

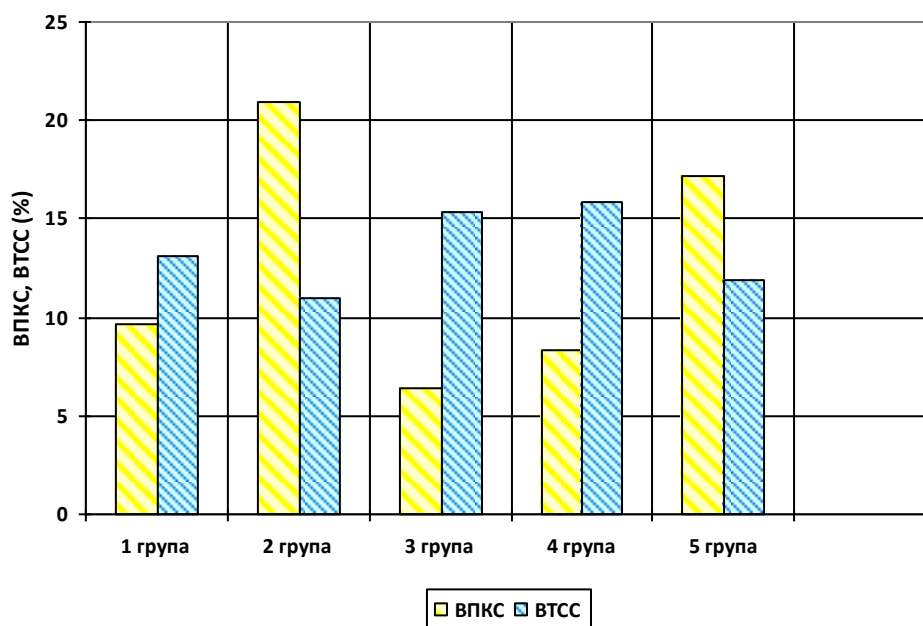


Рис. 6.32. Динаміка морфометричних параметрів кровоносного русла легень при НСІ-індукованому ГУЛ.

Відносна товщина судинної стінки дрібних артерій, тобто співвідношення поперечного розміру стінки судини до її зовнішнього діаметру, змінювалася наступним чином. Через 2 год ВТСС зменшувалася на 1,2 % і складала $(11,0 \pm 0,7)$ %. Мікроскопічно при цьому спостерігалось повнокров'я артерій як дрібного, так і середнього калібру, а просвіт цих судин візуально був розширеним. Цілком закономірно це супроводжувалося значним збільшенням відносної площі кровоносних судин. Величина останньої у 2-ій досліджуваній групі зростала на 11,2 % і становила $(20,9 \pm 2,3)$ %, при цьому достовірно відрізняючись від контрольних показників ($p < 0,001$).

Через 6 і 12 год відмічався спазм і малокров'я цих судин, що,

ймовірно, поглиблювало дистрофічні та некротичні зміни паренхіматозних структур легень внаслідок ішемії, котра є важливим патогенетичним елементом ГУЛ. При цьому ВПКС у 3-ій досліджуваній групі зменшилась на 3,3 % і дорівнювала $(6,4 \pm 0,7)$ %, у 4-ій групі цей показник мінімізувався на 1,4 %, і складав $(8,3 \pm 0,9)$ %. Величина ВПКС у 3-ій групі спостережень статистично достовірно відрізнялася від контрольної ($p < 0,01$). Одночасно ВТСС збільшувалася у 3-ій та 4-ій групах відносно контролю на 2,2 % і 2,8 % відповідно, сягаючи значень $(15,3 \pm 1,1)$ % та $(15,9 \pm 1,3)$ %.

Таким чином, порівнюючи морфометричні параметри судинн в інтервалі між 6 і 12 год експерименту, можна простежити тенденцію до деякого зростання їх відносної площі. Більш яскраво це виявилось через 24 год з моменту моделювання ГУЛ – у цей період просвіт дрібних артерій був паретично розширеним і виповненим кров'ю. Величина ВПКС інтенсифікувалася на 7,5 % і дорівнювала $(17,2 \pm 2,0)$ %, достовірно відрізняючись від контрольних показників ($p < 0,01$). Відносна товщина судинної стінки – $(11,9 \pm 0,9)$ % – свідчила про регресію на 1,2 % відносно групи порівняння.

Співставлення значень гістоморфометричних параметрів легеневої тканини щурів через 2 год після моделювання ГУЛ та у більш пізні часові періоди дозволило уточнити динаміку патоморфологічних змін, окреслену вище. Зокрема, ширина міжальвеолярних перегородок збільшувалася відносно 2-ої досліджуваної групи на 21,4 %, 45,6 % та 54,4 % у 3-ій, 4-ій і 5-ій групах відповідно, окрім того, у двох останніх вдалося виявити статистичну достовірність ($p < 0,05$).

Суттєві пертурбації мали місце і з боку відносних показників (рис. 6.33). Об'ємна частка пневматизованого простору 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 у 4-ій групі ($p < 0,01$) та 5-ій групах ($p < 0,001$). Відносна товщина стінки бронха максимально збільшувалася у 4-ій дослідній групі – на 4,2 % відносно 2-ої групи. Для 3-ої групи прогресія становила 1,4 %, для 5-ої групи – 2,6 %.

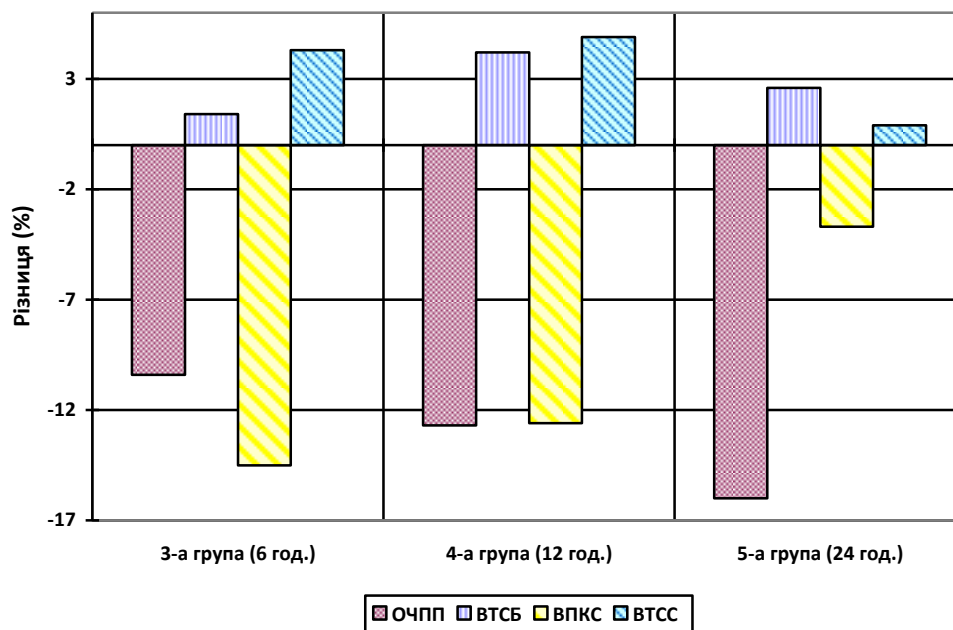


Рис. 6.33. Відмінності вивчених гістоморфометричних показників відносно 2-ої дослідної групи при ГУЛ.

Відносна площа кровоносних судин через 6 год зменшувалася відносно найбільш ранніх термінів експерименту, а потім поступово наростала, однак при цьому не досягаючи значень, зареєстрованих на 2 год досліді (рис. 6.33): різниця дорівнювала 14,5 % для 3-ої групи, 12,6 % – для 4-ої групи ($p < 0,001$ в обох випадках). В 5-ій групі ВПКС зменшилася на 3,7 %.

Відносна товщина судинної стінки через 6 і 12 год після моделювання ГУЛ була на 4,3 % та 4,9 % більшою, ніж через 2-і год. В останньому випадку мала місце статистично достовірна відмінність ($p < 0,01$). Через 24 год величина ВТСС майже поверталася до порівнюваного значення – різниця становила лише 0,9 %.

6.3 Гістологічні зміни легеневої тканини при експериментальному гострому ураженні легень у динаміці

Відомо, що легені є складною метаболічною системою, яка здатна забезпечувати газообмінну функцію, збереження гомеостазу, захищати організм від факторів зовнішньої агресії, при цьому різні клітинні системи

легень мають власну, строго визначену функцію. Резистентність легеневої тканини до пошкоджуючих агентів визначається механізмами неспецифічного захисту, до яких відносяться мукоциліарна та сурфактантна системи, ступінь аерації, стан кровообігу, фагоцитарна активність нейтрофілів і макрофагів [191, 463].

Проведені електронно-мікроскопічні дослідження респіраторного відділу легень через 2 год після дії чинника встановили, що для альвеол характерні реактивні зміни.

Це проявлялося розширенням і кровонаповненням просторів кровоносних капілярів, в яких були форменні елементи крові: еритроцити, лімфоцити, тромбоцити. Окремі можуть щільно прилягати до плазмолемі ендотеліоцитів (рис. 6.34).

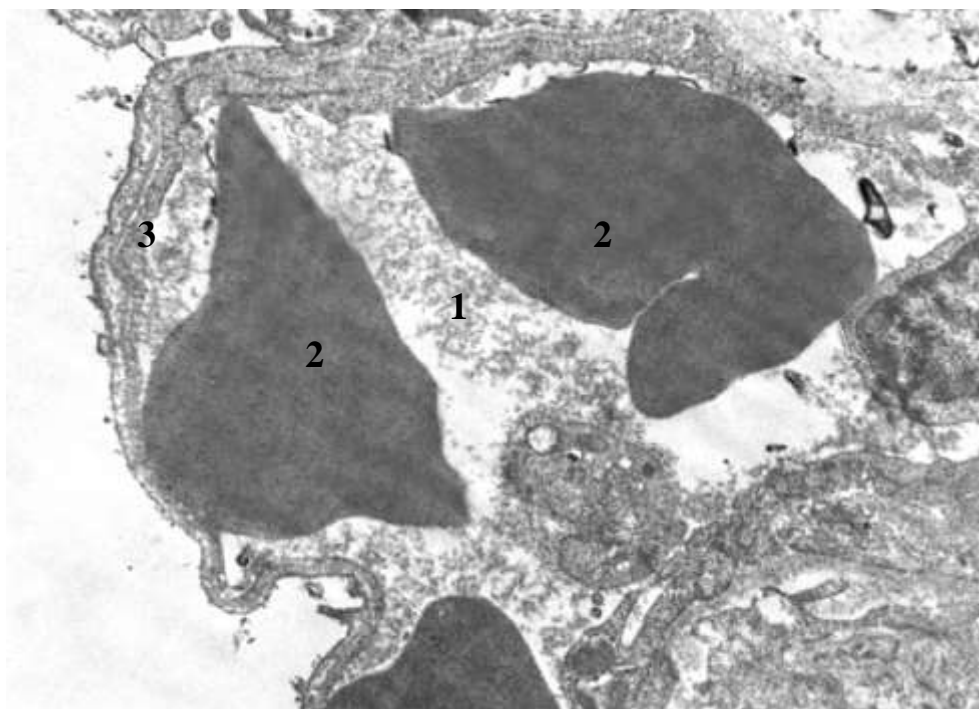


Рис. 6.34. Субмікроскопічні зміни альвеоли в 2-ій дослідній групі. Широкий просвіт гемокапіляра (1) з еритроцитами (2), аерогематичний бар'єр (3). x 7 000.

У цей термін досліду помірно змінювалася структурна організація компонентів аерогематичного бар'єру (АГБ). Базальна мембрана на окремих ділянках була витоншена, на окремих втрачала чіткість. Альвеолярний епітелій мав як тонкі електронно-щільні, так і місцями потовщені,

просвітлені цитоплазматичні ділянки альвеолоцитів 1 типу. У таких ділянках плазмолема стала хвилястою, утворювала вип'ячування. Ядра ендотеліоцитів і респіраторних епітеліоцитів мали подовгасту форму, з невеликими інвагінаціями каріолеми. В їх каріоплазмі переважав еухроматин, ядерця спостерігалися рідко (рис. 6.35).

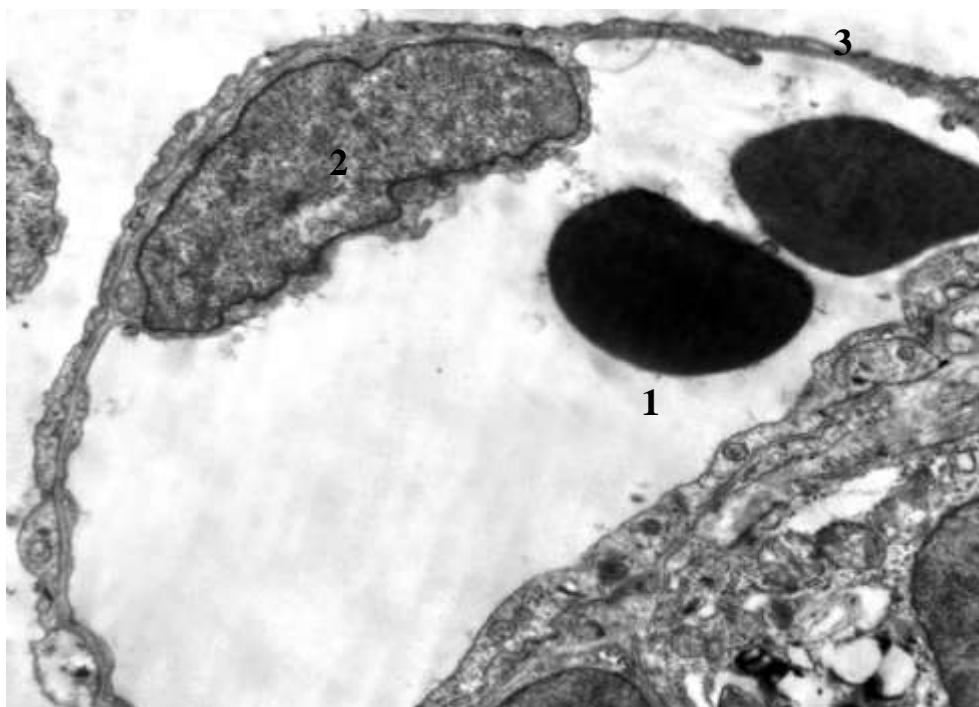


Рис. 6.35. Ультраструктура альвеоли в 2-ій дослідній групі. Широкий просвіт гемокapіляра з еритроцитами (1), ядро ендотеліоцита (2), тонкий аерогематичний бар'єр (3), ділянка його набряку (4). x 5 000.

У цитоплазмі ендотеліоцитів і респіраторних епітеліоцитів органел було мало, вони локалізувалися у парануклеарних ділянках цитоплазми, зменшувалася кількість піноцитозних пухирців.

У цей термін досліді змінювалася також ультраструктура альвеолоцитів 2 типу. Ядра багатьох клітин виглядали ущільненими, у каріоплазмі зростав вміст гетерохроматину. Осміофільні його ділянки мали вигляд невеликих грудок, а в основному гетерохроматин розміщувався біля внутрішньої ядерної мембрани. Перинуклеарний простір був відносно рівномірний, спостерігались окремі його розширення, ядерних пор у каріолемі було мало.

У цитоплазмі таких клітин слоїстих тілець було небагато, вони крупні, мали більше світлих, ніж осміюфільних слоїстих ділянок. Можливо, це пов'язано з виходом секрету і з необхідністю підтримки стану сурфактанту на поверхні альвеол. Частина мітохондрій була гіпертрофована, спостерігався локально просвітлений матрикс і пошкоджені кристи. Відмічено непротяжні каналці ГЕС, більша їх частина з вузькими просвітами, тільки окремі ділянки потовщені. На поверхні їх мембран було мало рибосом. У диктіосомах комплексу Гольджі виявлено мало цистерн і вакуолей.

Такий стан органел, що забезпечують секреторний процес у альвеолоцитах 2 типу, свідчив про пригнічення вироблення сурфактанту. Апікальна ділянка плазмолемі клітин мала мікрворсинки, які були невисокі (рис. 6.36).

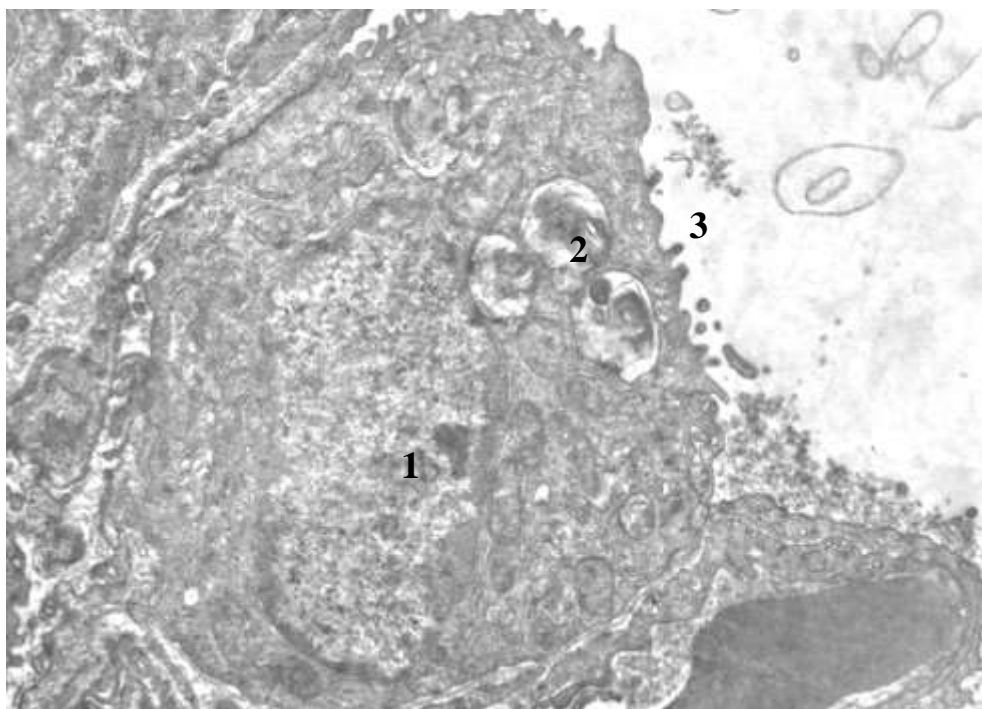


Рис. 6.36. Ультраструктурна організація альвеолоцитів 2 типу через 2 год експериментального гострого ураження легень. Ядро (1), пластинчасті тільця (2), мікрворсинки на апікальній поверхні клітини (3). x 8 000.

Субмікроскопічно встановлено, що альвеолярні макрофаги в цей термін досліду мали структурні ознаки функціональної активності. Ядра макрофагів округлої форми, виявлено окремі неглибокі інвагінації

каріолеми, в каріоплазмі визначалося ядрце та невеликі грудки гетерохроматину. У цитоплазмі таких клітин спостерігалися первинні і вторинні лізосоми, а також крупні фагосоми. Плазмолема макрофагів була нерівна, утворювала випинання, мікрровирости та інвагінації, що сприяло процесу фагоцитозу (рис. 6.37).

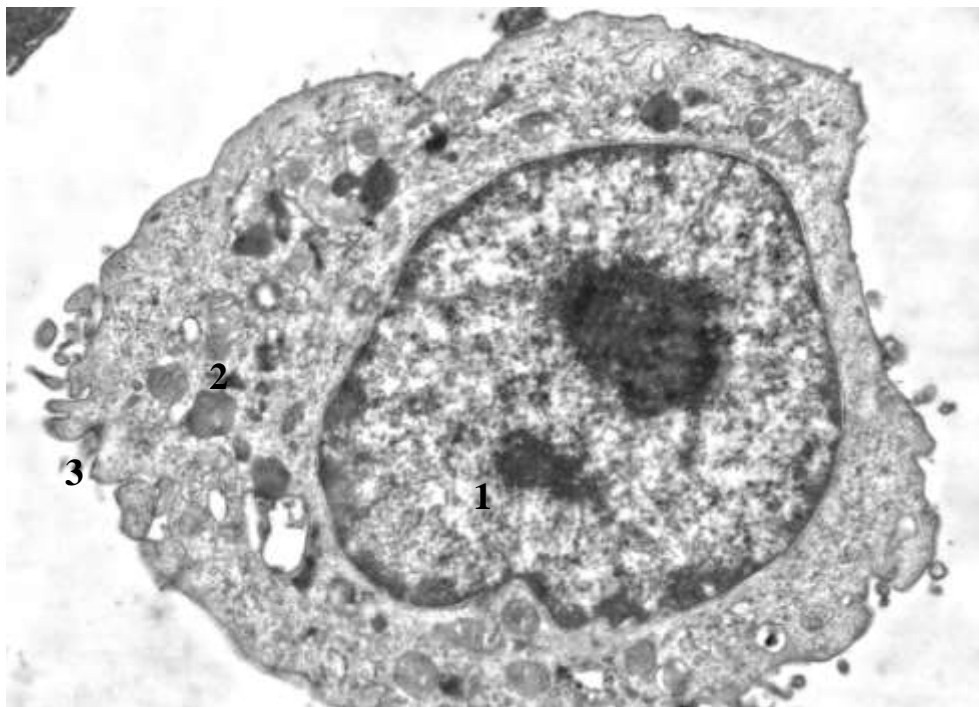


Рис. 6.37. Субмікроскопічна організація альвеолярного макрофага через 2 год експериментального гострого ураження легень. Ядро (1), первинні і вторинні лізосоми (2), цитоплазматичні вирости (3). x 7 000.

Субмікроскопічні дослідження респіраторного відділу легень при експериментальному ГУЛ, проведені у 3-ій дослідній групі тварин показали, що багато альвеол мали широкі просвіти кровоносних капілярів, які були вповнені форменими елементами крові. Виявлено еритроцити, сегментоядерні нейтрофіли, тромбоцити, лімфоцити. Ядра ендотеліоцитів і респіраторних альвеолоцитів були зміненої форми за рахунок інвагінацій, утворених каріолемою.

Ааерогематичний бар'єр мав потовщену нерівну стінку. Встановлено набряк і просвітлення цитоплазматичної ділянки респіраторних епітеліоцитів майже на всій поверхні альвеол у тварин з ГУЛ через 6 год моделювання. Їх плазмолема була хвиляста за рахунок нерівномірного

потовщення цитоплазми. У ній було мало піноцитозних пухирців, виявлено окремі вакуолі, органели нечисельні і деструктивно змінені. Товщина базальної мембрани була нерівномірною, відмічалися локально потовщені її ділянки, вузькі, а також нечітко контуровані.

Цитоплазматична частина ендотеліальних клітин також мала різну товщину, утворювала вип'ячування у просвіт кров'яного капіляра (рис. 6.38).

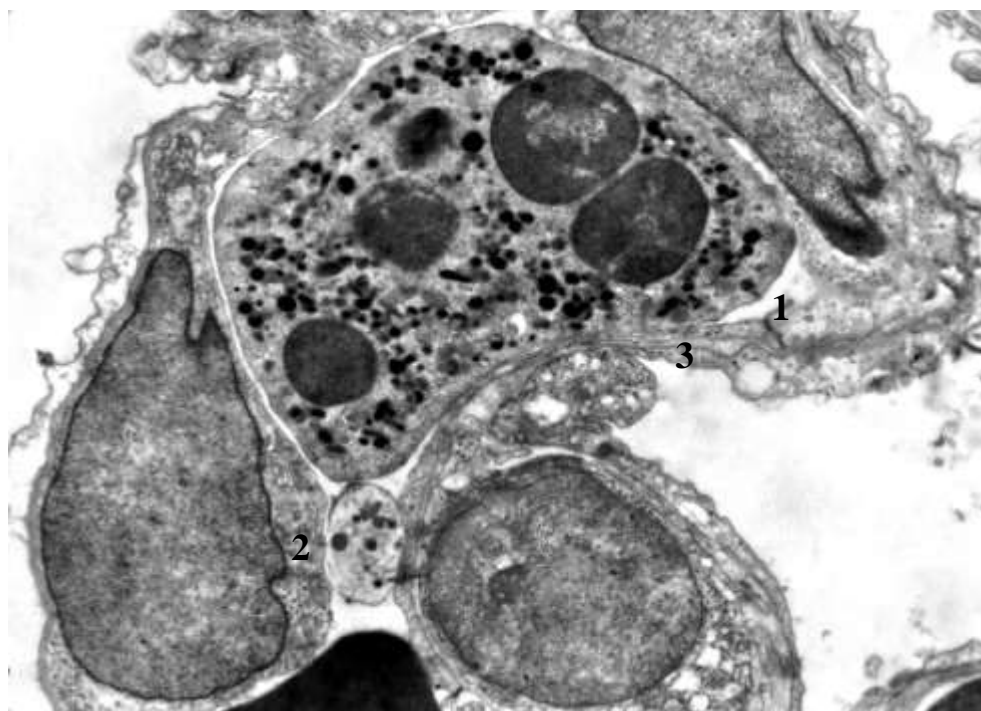


Рис. 6.38. Субмікроскопічні зміни альвеоли через 6 год при експериментальному гострому ураженні легень. Просвіт гемокапіляра з форменими елементами крові (1), ендотеліоцит (2), аерогематичний бар'єр (3). $\times 6\ 000$.

У цитоплазмі ендотеліоцитів виявлялись деструктивно змінені органели. Гіпертрофовані мітохондрії мали вогнищево просвітлений матрикс, зруйновані кристи. Короткі канальці ендоплазматичної сітки розширювались, рибосом мало. Спостерігалися вакуолеподібні структури, кавеол і піноцитозних пухирців було небагато (рис. 6.39).

Для ультраструктури альвеолоцитів 2 типу через 6 год після моделювання ГУЛ були характерні ядра з нерівними контурами каріолеми. Гетерохроматин утворював скупчення або розташовувався вздовж каріолеми. В цитоплазмі на місці її пластинчастих тілець відмічено електроннопрозорі

округлі вакуолеподібні структури, осміофільний слоїстий матеріал мав невеликій об'єм і розташовувався по периферії. Нечисельні мітохондрії були гіпертрофовані, мали гомогений матрикс, в якому кристи погано виявлялися.

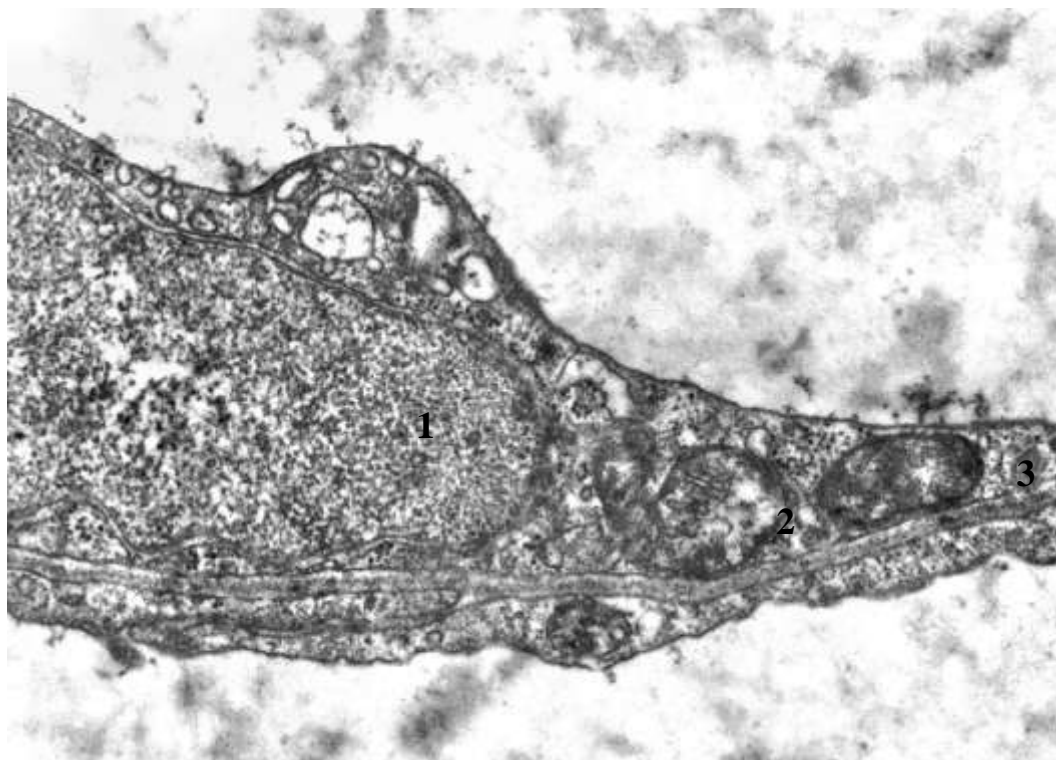


Рис. 6.39. Фрагмент альвеоли через 6 год при експериментальному гострому ураженні легень. Ядро ендотеліоцита (1), змінені органели у цитоплазмі (2), цитоплазматична ділянка альвеолоцита 1 типу (3). x 25 000.

Відмічено небагато каналців ГЕС, вони були частково розширені, а на поверхні їх мембран спостерігалось мало рибосом. Цистерни в диктіосомах комплексу Гольджі були поодинокі. На апікальній частині клітин плазмолема мала малі мікроворсинки, більша частина її оголена (рис. 6.40). Такий стан секреторних альвеолоцитів у щурів 3-ої дослідної групи відповідав пригніченню їх функції.

Ультраструктура альвеолярних макрофагів свідчила про їх фагоцитарну активність. У цитоплазмі таких макрофагів виявлено первинні осміофільні лізосоми, крупні вторинні фагосоми. Частина органел була деструктивно змінена. Округлі ядра виглядали зменшеними, нечіткі контури мембран каріолеми, ділянки гетерохроматину в каріоплазмі.

Цитоплазматичні вирости спостерігалися на окремих ділянках поверхні, плазмолема у них була нечітка, розрихлена (рис. 6.41).

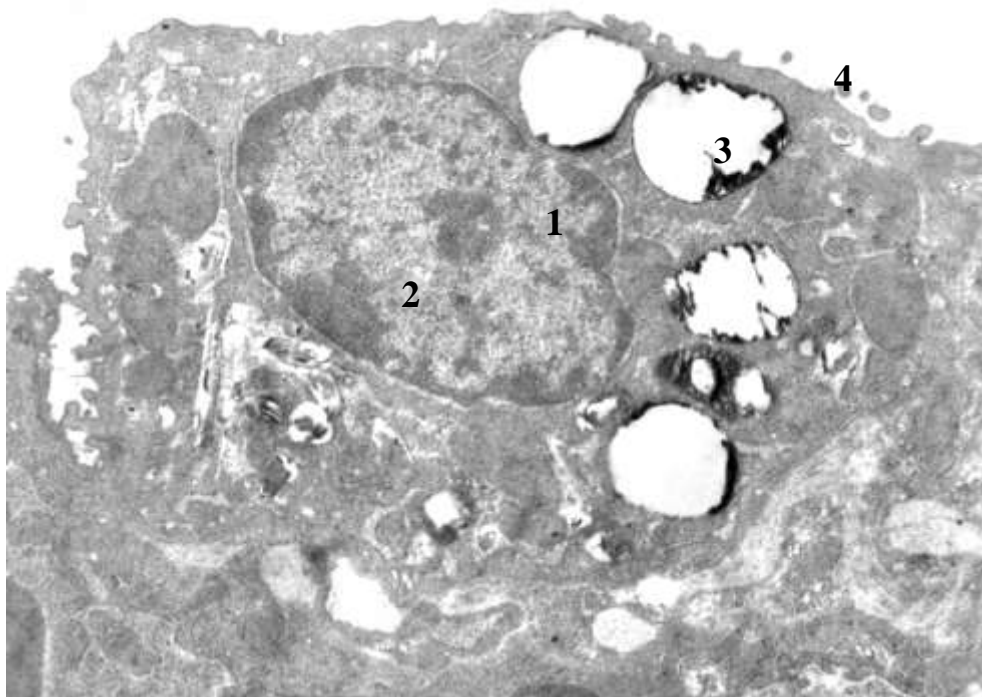


Рис. 6.40. Ультраструктурна організація альвеолоцитів 2 типу у 3-ій дослідній групі. Ядро (1), гетерохроматин у каріоплазмі (2), вакуолеподібні пластинчасті тільця (3), поодинокі мікрворсинки (4) на поверхні клітини. $\times 8\ 000$.

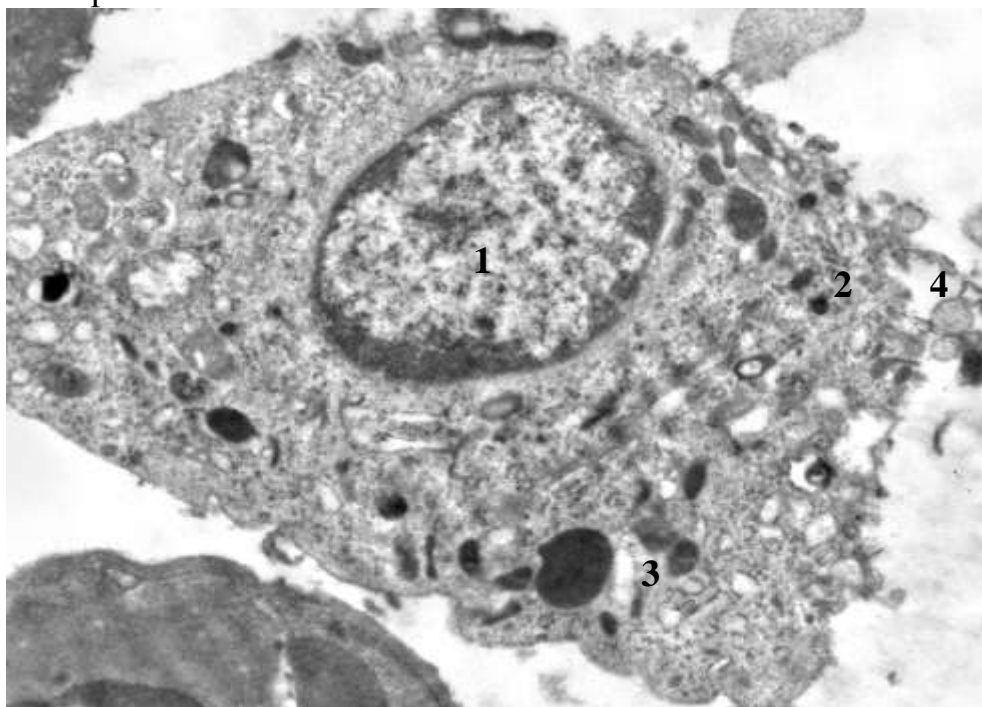


Рис. 6.41. Субмікроскопічна організація альвеолярного макрофага через 6 год експериментального гострого ураження легень. Невелике ядро (1), первинні (2) і вторинні (3) лізосоми, цитоплазматичні вирости (4). $\times 5\ 000$.

Субмікроскопічні дослідження легень при експериментальному ГУЛ, проведені в 4-ій дослідній групі показали, що в респіраторному відділі частина альвеол мала значно розширені просвіти кровоносних капілярів. В них було багато тромбоцитів, лімфоцитів, нейтрофілів і зміненої форми еритроцитів. Стінка таких альвеол мала витоншені та потовщені ділянки (рис. 6.42).

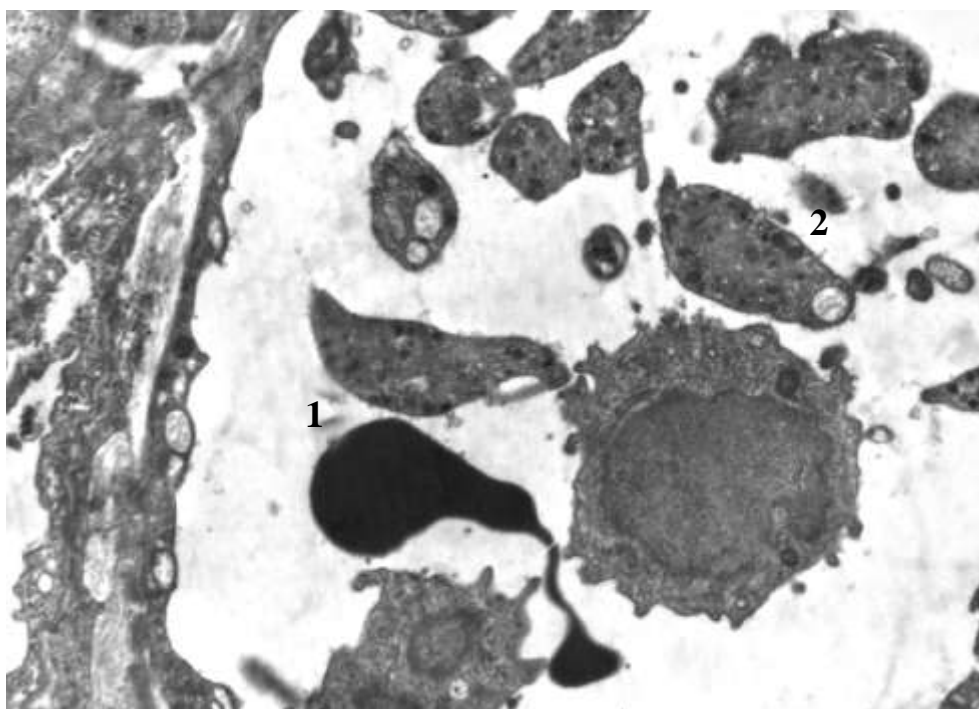


Рис. 6.42. Ультраструктурний стан стінки альвеоли в 4-ій дослідній групі. Просвіт гемокapіляра (1), чисельні формені елементи крові (2). x 5 000.

Спостерігалися також менших розмірів альвеоли з помірними просвітами гемокapілярів та значно зміненою стінкою. У складі аерогематичного бар'єру була наявна нерівномірної товщини базальна мембрана, потовщена з боку інтерстицію і витоншена з вільного боку. Плазмолемні ендотеліоцитів і респіраторних епітеліоцитів хвилясті. Цитоплазматичні частини ендотеліальних клітин також мали різну товщину, утворювали вип'ячування у просвіт кров'яного капіляра. Ядра ендотеліоцитів були невеликі, осміофільні, майже вся каріоплазма виконана гетерохроматином. Зона органел таких клітин була малої площі і органели в ній виявлялись поодинокі і пошкоджені.

Цитоплазматичні ділянки респіраторних епітеліоцитів були нерівномірні, суттєво потовщені, електроннопрозорі, їх зовнішня мембрана утворювала вип'ячування та інвагінації, піноцитозних пухирців і кавеол мало (рис. 6.43). Такий стан аерогематичного бар'єру, потовщення його стінки свідчили про суттєве погіршення газообміну у респіраторному відділі легень.

Альвеолоцити 2 типу у цей термін спостереження також були значно змінені. Їх ядра зберігали округло-овальну форму, проте значно змінювалася каріолема. Вогнищево значно розширювався перинуклеарний простір за рахунок відшарування зовнішньої ядерної мембрани. Виявлено ділянки локального пошкодження і ураження внутрішньої ядерної мембрани. Ядерних пор у каріолемі небагато, вони втрачали структурованість. У каріоплазмі було багато осміофільного гетерохроматину, ядерця не виявлялися.

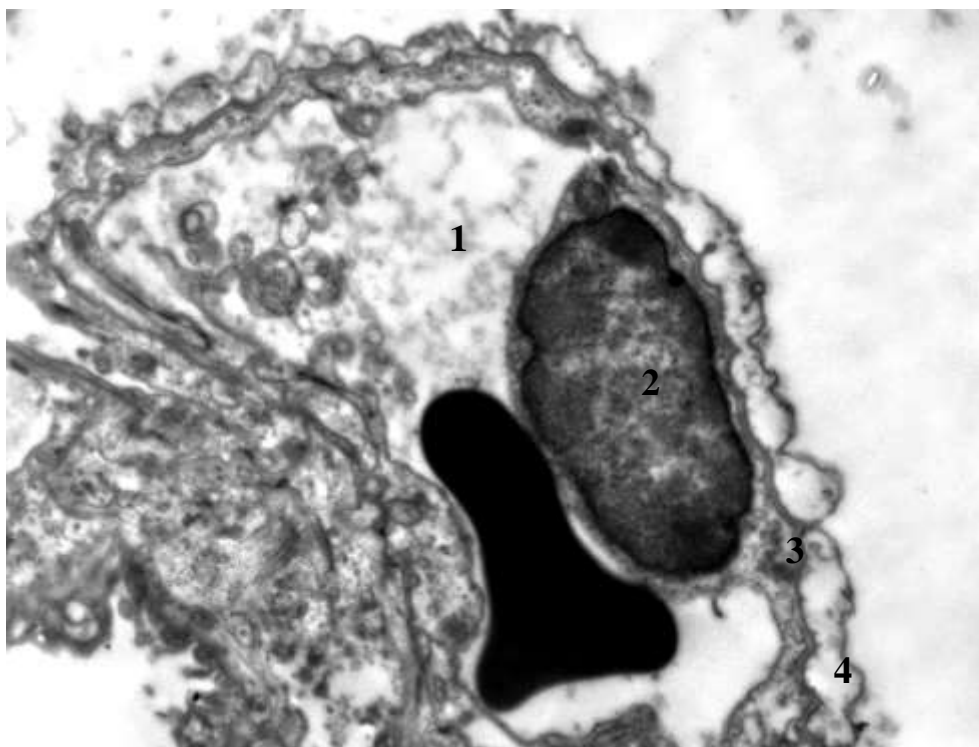


Рис. 6.43. Ультраструктурний стан стінки альвеоли через 12 год при експериментальному гострому ураженні легень. Просвіт гемокapіляра (1), ядро (2) і цитоплазма ендотеліоцита (3), набрякла цитоплазматична ділянка респіраторного альвеолоцита (4). x 7 000.

У цитоплазмі таких альвеолоцитів були деструктивно змінені органели. Мітохондрії мали осміофільний гомогенізований матрикс, в якому кристи не виявлялися, або були їх фрагменти. Нечітка і зовнішня мітохондріальна мембрана. Потовщені, фрагментовані каналці гранулярної ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі нагадували вакуолі. Значно змінювалися пластинчасті тільця, вони набули форми електроннопрозорих порожнин, іноді великих і неправильної форми, та мали небагато периферійно розташованого осміофільного матеріалу. Апікальна ділянка плазмолемі утворювала вип'ячування, мікрворсинки були поодинокі та фрагментовані (рис. 6.44).

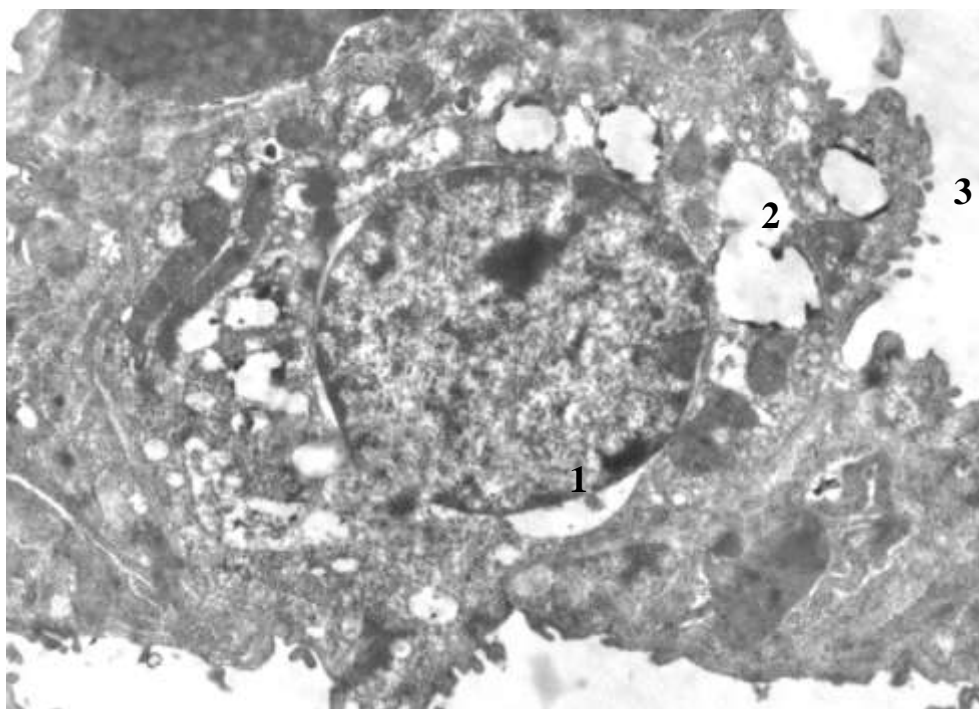


Рис. 6.44. Субмікроскопічні зміни альвеолоцита 2 типу у 4-ій дослідній групі. Ядро зі збільшеними перинуклеарними просторами (1), світлі вакуолеподібні структури (2), апікальна ділянка плазмолемі з окремими мікрворсинками (3). $\times 8\ 000$.

Як і в попередній термін досліді, у 4-ій дослідній групі виявлено альвеолярні макрофаги, що мали у цитоплазмі багато різної електронної щільності фагосом, первинних лізосом небагато, вони були невеликі,

округлі, осміофільні. Плазмолема макрофагів нерівна, але цитоплазмичних виростів було мало.

Крім такого типу макрофагів спостерігалися клітини, що мали округлі ядра, добре структуровану цитоплазму. Для них характерні поодинокі великі цитоплазматичні вирости, які були розміщені по поверхні альвеол, а окремі розташовувалися вільно у її просвіті (рис. 6.45).

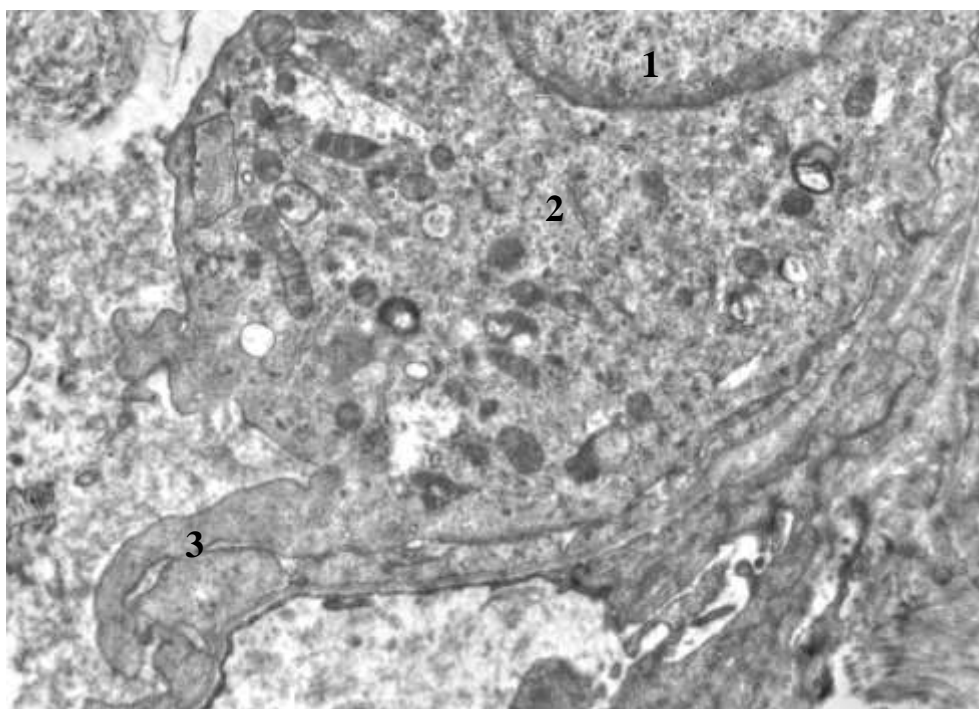


Рис. 6.45. Ультраструктура альвеолярного макрофага в 4-ій дослідній групі. Фрагмент округлого ядра (1), цитоплазма (2), значні цитоплазматичні вирости (3). $\times 9\ 000$.

Такі ультраструктурні ознаки макрофагів свідчили про здатність клітини фагоцитувати крупні ушкоджені структури (можливо це малодиференційовані клітини, що мігрують з інтерстицію у просвіт альвеоли).

Субмікроскопічно у 5-ій групі через 24 год моделювання ГУЛ у респіраторному відділі частина альвеол мала значно розширені кровоносні капіляри, у просвітах яких спостерігалися нейтрофіли, тромбоцити, еритроцити. Їх стінка мала витоншені та потовщені ділянки.

Також були альвеоли з помірними просвітами гемокапілярів. Компоненти стінки таких альвеол були нечіткі, виявлялися місця пошкодження цитоплазматичних ділянок ендотеліоцитів. Спостерігалось пошкодження базальної мембрани, на окремих ділянках вона не контурувалася. Цитоплазматичні ділянки респіраторних епітеліоцитів мали місця потовщення, піноцитозних пухирців було мало (рис. 6.46).

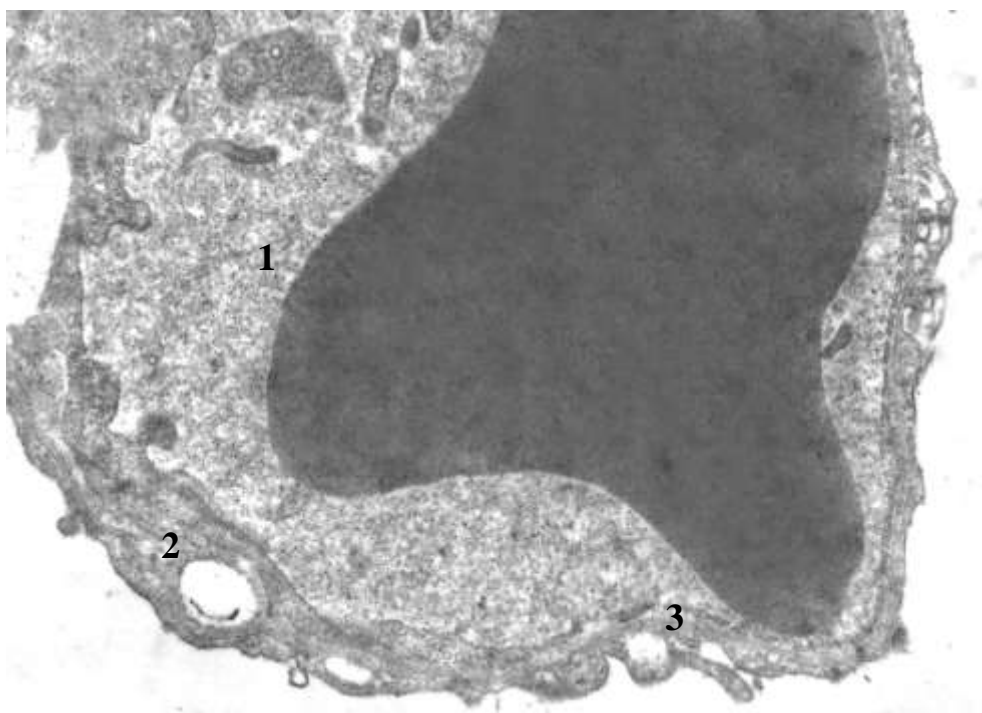


Рис. 6.46. Ультраструктура альвеоли через 24 год при експериментальному гострому ураженні легень. Просвіт гемокапіляра (1), потовщена ділянка альвеолоцита (2), нечітка базальна мембрана (3). х 9 000.

Виявлялися окремі альвеоли, у яких просвіти гемокапілярів були маленькі, без формених елементів крові. Компоненти аерогематичного бар'єру значно змінювались. Цитоплазматичні ділянки ендотеліоцитів мали вузькі, осміофільні частини та ті, в яких були наявні піноцитозні пухирці. Базальна мембрана нечітка, на окремих ділянках розшаровувалася. Цитоплазма респіраторних альвеолоцитів набрякла, нерівномірно потовщувалася, на окремих ділянках значно потовщувалась з утворенням великих вип'ячувань (рис. 6.47). Біля стінки таких альвеол спостерігалися

безструктурні маси, що були, мабуть, старими неутілізованими формати сурфактанту.

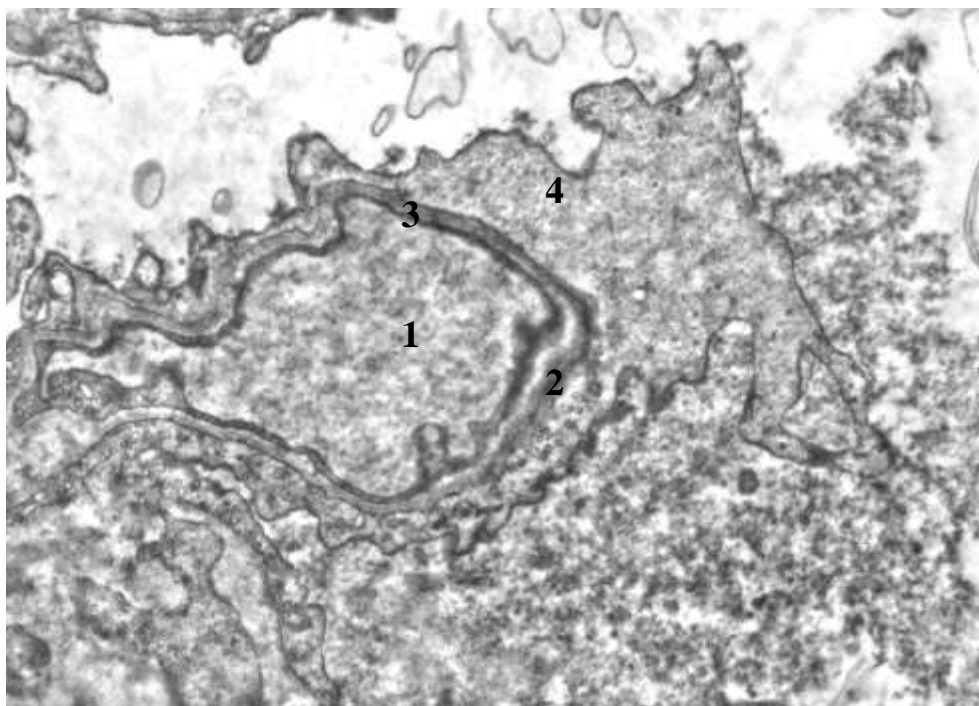


Рис 6.47. Ультраструктурні зміни альвеоли у 5-ій експериментальній групі. Вузький проствіт гемокапіляра (1), потовщена ділянка базальної мембрани (2), осміофільна цитоплазма ендотеліоцита (3), набряк цитоплазми респіраторного альвеолоцита (4). x 6000.

Для ультраструктури альвеолоцитів 2 типу характерні значно зміненої форми ядра. Їх каріолема була нерівна, утворювала інвагінації. Відмічено значні перинуклеарні простори, ядерні пори поодинокі. Гетерохроматин осміофільними ділянками розташовувався вздовж каріолеми та утворював грудки у каріоплазмі, ядерця були відсутні. У цитоплазмі пластинчастих тілець мало, вони гіпертрофовані, мали значні електроннопрозорі ділянки, осміофільний слоїстий матеріал виявлено в окремих тільцях.

Органели, що відповідають за секрецію, не виявлялися, були їх фрагменти. Мітохондрії зустрічалися рідко, вони деструктивно змінювалися. У цитоплазмі були неправильної форми світлі структури. На

апикальній частині альвеолоцитів 2 типу плазмолема потовщувала, нечітка, мала поодинокі мікрворсинки, встановлені оголені місця (рис. 6.48).

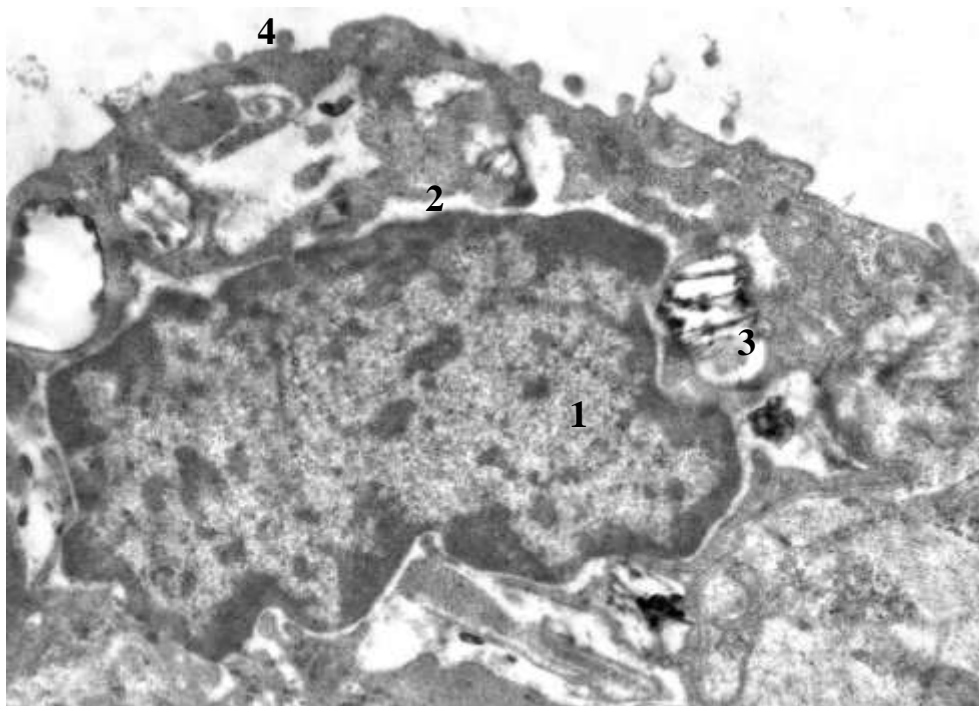


Рис. 6.48. Субмікроскопічні зміни альвеолоцита 2 типу через 24 год експериментального гострого ураження легень. Неправильної форми ядро (1), значні перинуклеарні простори (2), пластинчасті тільця (3), апікальна ділянка з окремими мікрворсинками (4). x 12 000.

Альвеолярні макрофаги мали у цитоплазмі багато різної електронної щільності фагосом. Вони були різними за розмірами і формою, як округлі так і неправильної форми. Первинних лізосом небагато, вони невеликі, округлі, осміофільні. Мітохондрії мали гомогенізований матрикс, у якому кристи не виявлялися.

Спостерігалися округлої форми невеликі ядра зі значними осміофільними ділянками гетерохроматину. Плазмолема макрофагів була нерівна, але виростів цитоплазми мало (рис. 6.49). Такий стан макрофагів свідчив про пригнічення їх функціональної активності та виснаження.

До компенсаторно-приспосувальних процесів у перші 2 год експерименту можна віднести повнокрів'я капілярів без розвитку агрегації еритроцитів, розширення альвеол без ознак здавлення капілярів у міжальвеолярних перетинках, притік нейтрофілів і макрофагів як фактор

клітинного захисту, що попереджає генералізацію ураження. Проте вже у першій стадії ГУЛ пригнічується вироблення сурфактанту внаслідок дистрофічних і деструктивних змін альвеолоцитів 2 типу, а також можливого ушкодження інтраальвеолярного пула сурфактанту легень хлоридною кислотою, яка проникає через структури АГБ, що зумовлює розвиток гіпоксії.

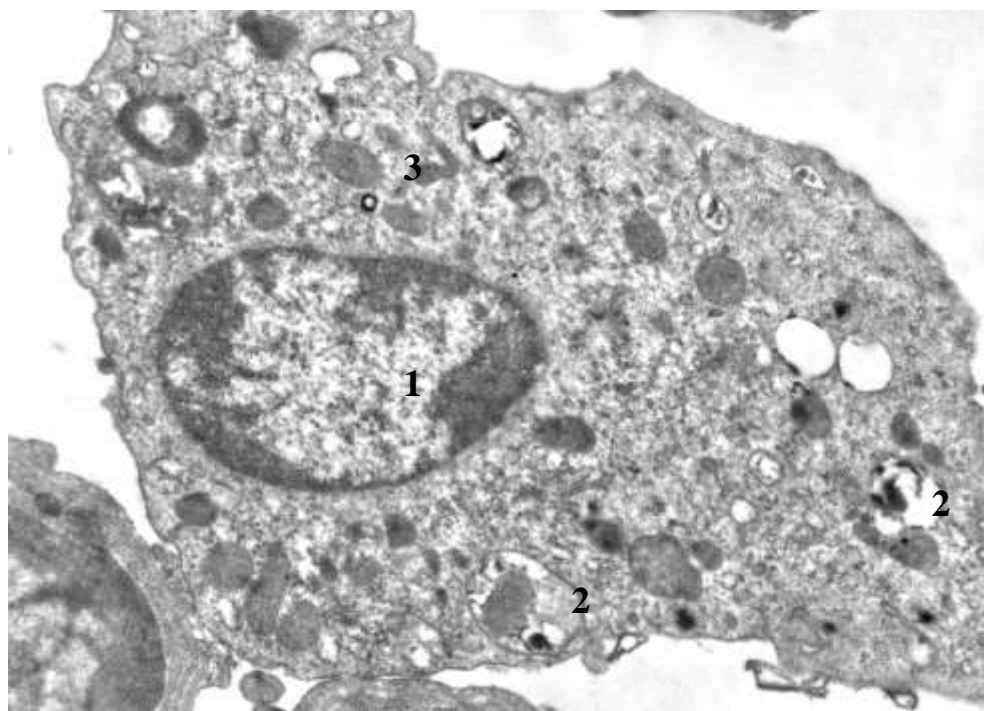


Рис. 6.49. Ультраструктура альвеолярного макрофага у 5-ій дослідній групі. Невелике ядро (1), крупні різної електронної щільності фагосоми (2), пошкоджені мітохондрії (3). x 7 000.

Ультрамікроскопічні зміни через 6 год експериментального ГУЛ також свідчили про подальше посилення порушень мікроциркуляції та проявів дистрофічних, а також деструктивних і некротичних змін у клітинах, та прогресування гіпоксії. Кількість альвеолярних макрофагів у просвіті альвеол була невелика й, в основному, представлена активними в функціональному відношенні формами, що свідчило про активацію системи місцевого захисту легень [457].

Через 12 год спостереження в усіх апоптотично і пренекротично ущільнених альвеолоцитах 2 типу визначалися каріопікноз із глибокою конденсацією і маргінацією хроматину, набрякання мітохондрій зі значною

редукцією крист, розширення вакуолей комплексу Гольджі і цистерн гранулярної ЕПС без прикріплених рибосом. Цитоплазма таких альвеолоцитів 2 типу відрізнялась підвищеною осміофілією нуклеопротейнів і дезінтегрованих рибосом. Ущільнені і зменшені альвеолоцити були оточені розширеними відростками макрофагів, які зберігали здатність до фагоцитозу. Такі структурні зміни могли бути однією із фаз апоптозу альвеолоцита 2 типу напередодні його дезінтеграції каспазами, а могли бути також проявами розвитку некрозу легеневої тканини.

На відміну від патогенно-індукованого апоптозу, що виникав через 12 год. моделювання ГУЛ, характерною ознакою якого була збереженість ядерця у пікнотизованому ядрі. Електронно-мікроскопічний аналіз легеневої тканини через 24 год експерименту вказував на явища некрозу, оскільки виявлявся глибокий пікноз ядра з відсутністю у ньому ядерця.

Узагальнюючи результати дисертаційного дослідження, що наведені в даному розділі, можна зробити наступні висновки:

1. Гостре ураження легень у щурів, яким інтратрахеально вводили хлоридну кислоту, вже через 2 год експерименту морфологічно проявляється повнокрів'ям міжальвеолярні перетинки, набряклістю, інфільтрацією лімфогістіоцитами, еритроцитами та нейтрофільними гранулоцитами з вогнищевими скупченнями сегментоядерних лейкоцитів; вираженими дистрофічними змінами поверхневого епітелію дрібних бронхів, скупченням секрету або злуценого епітелію у просвіті деяких із них, розширенням альвеол й емфізематозно зміненою легеневою тканиною. У судинах легеневого мікроциркуляторного русла розвивається повнокрів'я, формуються складжі. Із збільшенням тривалості процесу до 1 доби наростає набряк легень, потовщення міжальвеолярних перетинок, що веде до прогресування гіпоксії.

2. 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 залежно від тривалості протікання патологічного процесу.

3. Пошкодження легень, індуковане інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, обумовлене гетерогенними порушеннями перфузії та альвеолярної вентиляції, які наростають в міру прогресування захворювання. Морфологічні зміни у респіраторному відділі легень при ГУЛ реалізуються в комплексі дистрофічних і деструктивних реакцій у структурах аерогематичного бар'єру, при цьому основними морфогенетичними типами селективної загибелі клітин легень є некроз та апоптоз.

Основні положення і висновки, викладені в цьому розділі, опубліковані в наукових працях автора [464-470].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ Й УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Аналіз літературних джерел засвідчив, що останнім часом значної актуальності набувають проблеми ГУЛ та ГРДС як крайнього прояву гострого пошкодження легень [471, 472], які характеризуються розвитком у пацієнтів гіпоксії, тахіпноє та зниженням еластичності легень [473]. Негативною тенденцією є невинне зростання поширеності ГУЛ. За даними С.Н. Goss et al. (2003), відмічено збільшення його частоти з 17,9 до 34 випадків на 100 000 населення [9].

Гостре ураження легень – поліетіологічне захворювання із стабільно високим рівнем захворюваності і летальності, що вимагає детального вивчення механізмів його розвитку на різних рівнях організації задіяних структур. Сучасні дослідження, як свідчать дані літератури, показують, що синдром ГУЛ є неспецифічними захворюваннями та згідно з висновками Американсько-Європейської конференції (1992) визначається як синдром запалення та підвищеної капілярної проникливості у системі легеневого кровообігу, що пов'язано з комплексом фізіологічних порушень, які не обумовлені лівопередсердною або легенево-капілярною гіпертензією.

На даний час при ГУЛ недостатньо вивчено співвідношення порушень кисневого обміну, процесів ПОЛ, білків, нітросидергічних процесів та функціонального стану системи антиоксидного захисту, клітинної й гуморальної ланок імунного захисту, цитокінового статусу та закономірностей розвитку ендотоксикозу. Відомі патогенетичні ланки ГУЛ не в повній мірі пояснюють характер розвитку патологічного процесу в легенях та системному кровотоці, тому потребують дослідження молекулярних механізмів загально-деструктивних явищ при даному синдромі. Існує необхідність встановлення взаємозв'язків між реалізацією некробіотичних процесів, апоптозу та метаболічними змінами при ГУЛ, що

дозволить вийти на новий рівень обґрунтування профілактики та лікування його.

Тому метою дослідження було з'ясувати особливості патогенезу експериментального ГУЛ на підставі дослідження порушень системного і легеневого гомеостазу та метаболічних і деструктивних процесів

Тваринам моделювали ГУЛ за методикою G. Matute-Bello в авторській модифікації [296, 302]. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин в аналогічній дозі. Дослідження проводили в крові, БАЗ та паренхімі легень через 2, 6, 12 та 24 год. Основним критерієм правильного моделювання ГУЛ був рівень індексу оксигенації (pO_2/FiO_2). З метою оцінки його ступеня дослідження проводились у п'яти групах тварин. Через 2, 6, 12 і 24 год розвитку досліджуваної патології в умовах тіопентало-натрієвого знеболення у тварин за розробленим методом забирали артеріальну та венозну кров, яка протягом перших 20 хв проходила дослідження на аналізаторі ЭЦ-60 Э (Скверті-Мед, Росія). Для забору крові була розроблена та використана оригінальна методика, яка полягає у безпосередньому заборі артеріальної крові з лівих відділів серця, шляхом пункції його через діафрагму після проведення лапаротомії та венозної крові безпосередньо з правого шлуночка після проведення торакотомії [302].

У роботі досліджували газовий склад крові та рН артеріальної й венозної крові, загальний рівень лейкоцитів та НГ, ПОЛ (ДК, ТК, ТБК-активні продукти), ОМБ, систему антиоксидного захисту (СОД, каталаза, церулоплазмін, SH-групи, ЗАОА), метаболіти оксиду азоту, показники ендогенної інтоксикації (МСМ/254, МСМ/280, ЕП), стан клітинної (субпопуляції Т-клітин) та гуморальної ланки імунітету (В-клітини, Ig M, Ig G, Ig A, ЦК), про- та протизапальні цитокіни (ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10), АФК у НГ, кількість НГ зі зниженим трансмембранним потенціалом, відсоток ФНП-R1 презентуючих клітин, рівень раннього та пізнього апоптозу, активність каспази-3.

Як свідчать дані багатьох авторів, у патогенезі ГУЛ важливу роль відіграє порушення легеневого газообміну внаслідок безпосередньої або опосередкованої дії патологічного чинника [298, 300, 474, 475]. У відповідь на патогенний чинник, в нашому дослідженні – хлоридну кислоту, імунна реакція, яка проявляється вивільненням протеаз, оксидантів, лейкотрієнів і прозапальних цитокінів, зумовлює пошкодження легеневого ендотелію, що веде до набряку легень, та ураження альвеолярного епітелію, у результаті чого знижується продукція сурфактанту і втрачається нормальний транспорт рідини [338, 339]. Акумуляція рідини, багатої білками в альвеолах є чинником інактивації сурфактанту, тим самим погіршуючи функцію легень [340]. Оцінка рівня набряку легень показала поступове наростання співвідношення W/D протягом 12 год експерименту, що зберігається протягом наступних 12 год ($p < 0,01$) і свідчить про розвиток набряку легень та опосередковано вказує на ендотеліальну дисфункцію при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти. У результаті цього погіршується газообмін в легенях, тому завданням нашої роботи стало вивчення особливостей розвитку кисневого дисбалансу у лабораторних тварин.

Погіршення газообміну в легенях вело до зсуву рН артеріальної крові в кислу сторону в перші 6 год дослідження ($p < 0,01$). Потрібно зауважити, що через 12 год експерименту рівень рН дещо підвищився, проте через 24 год кислотність артеріальної крові знову знижувалось до рівня 3-ої групи. В умовах закислення середовища крива дисоціації оксигемоглобіну зміщувалась вправо, що зменшує спорідненість кисню до гемоглобіну і сприяє віддаванню кисню у тканини, поглиблюючи тканинну гіпоксію [342, 343]. Ознаки гіперкапнії зменшувалися на 12 год досліду, при цьому показник не відрізнявся від даних 2-ої групи та контролю, проте в 5-ій дослідній групі вони знову наростали і відповідали практично результатам 3-ої групи.

На ранній стадії ГУЛ порушення оксигенації пов'язане з аспірацією хлоридної кислоти. Легеневий набряк і бронхообструкція можуть бути факторами, які зумовлюють зниження індексу оксигенації (pO_2/FiO_2), що свідчить про наростання респіраторного ацидозу. В перші 6 год експерименту виявлено порушення кислотно-лужного балансу у вигляді респіраторного ацидозу, обумовленого підвищенням у крові pCO_2 та зниженням pO_2 та рН.

Зростання рН артеріальної крові, незначне зниження pCO_2 та підвищення pO_2 свідчать про компенсацію дихального ацидозу через 12 год експерименту. Як відомо, за компенсованого ацидозу зазвичай інтенсифікуються процеси пероксидації [344, 345].

Як результат порушення обміну газів крові виникає артеріальна гіпоксемія, викликана наростанням набряку у дистальних повітряних просторах легень. Крім порушення кисневого обміну, відмічено зміни екскреції вуглекислого газу, що призводить до збільшення частоти дихання, хвилинного об'єму дихання [476, 477].

Практично всі критичні стани супроводжуються порушенням кисневого транспорту. В одних випадках спостерігається зниження доставки кисню, а в інших, навпаки, значне його підвищення. Важливим компонентом кисневого транспорту є утилізація кисню клітинами, яка в різних клінічних ситуаціях може варіювати в широких межах [346, 347]. Оскільки показники насичення артеріальної крові киснем на тлі ГУЛ були меншими порівняно із контролем, то й відповідно у дослідних групах збільшувався альвеолярно-артеріальний градієнт за киснем. Даний показник підтверджує зменшення ступеня насичення крові киснем в умовах ГУЛ. Результати показали, що в умовах патології він значно знижується і може бути використаний як додатковий критерій діагностики та оцінки перебігу ГУЛ.

Враховуючи значну роль у патогенезі ГУЛ процесів гіпоксії [478-480] було вивчено вплив даної патології на інтенсивність процесів пероксидації та антиоксидного захисту у крові, БАЗ та гомогенаті легень.

Внаслідок окисно-відновних реакцій в організмі тварин постійно проходить генерація АФК, які викликають окиснювальну модифікацію внутрішньоклітинних біополімерів: білків, ліпідів, нуклеїнових кислот, вуглеводів. Фізіологічний рівень вільнорадикальних процесів і пероксидного окиснення макромолекул забезпечує регулювання ліпідного складу і проникності мембран, проліферації, фагоцитозу, синтезу білків [481, 482]. Однак під дією певних екстремальних чинників, як наприклад, аспірація шлункового вмісту, токсичні речовини, запальні процеси, в організмі посилюються окиснювальні процеси, порушується збалансованість антиоксидної та оксидативної систем, внаслідок чого розвивається оксидативний стрес, який є однією із головних патогенетичних ланок серцево-судинної і бронхолегеневої патологій, алергічних захворювань, хімічних інтоксикацій, деструктивних процесів [483].

Встановлено зростання показників ПОЛ у сироватці крові при ГУЛ, що свідчило про порушення балансу між швидкістю процесів утворення АФК й антиоксидною системою, що сприяло активації процесу ПОЛ і призвело до повного розпаду ненасичених ліпідів. У гомогенаті легень відмічалось достовірне підвищення як первинних, так і вторинних продуктів ПОЛ: вже через 2 год ДК і ТК зросли в середньому на 45 %, при цьому протягом всього часу спостереження відбувалося наростання досліджуваних показників і через 24 год їх рівень був найвищий, що свідчить про важливу роль ініціації ПОЛ у патогенезі ГУЛ. Враховуючи той факт, що внаслідок активації ендогенних фосфоліпаз при нестачі кисню у плазмі крові збільшується вміст безпосередніх субстратів ПОЛ – вільних поліненасичених жирних кислот, що призводить не тільки до активації ПОЛ, а й внаслідок зростання активності за цих умов ліпоксигеназ, посилюватиме процеси утворення ейкозаноїдів (лейкотрієнів, протаноїдів), які теж починаються з реакцій пероксидації ліпідів і є активними регуляторами тону судин [484, 485]. При цьому активація ліпоксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти та утворення

лейкотриєнів характеризується тромбоцитаактивуючим ефектом. Крім того, ендотеліоцити також можуть синтезувати тромбоцитаактивуючий фактор з арахідонової кислоти фосфатидилхоліну плазматичних мембран, що погіршуватиме кровопостачання, посилюючи гіпоксію [486], і може призвести до неконтрольованого зростання у крові токсичних метаболітів ПОЛ при ГУЛ.

Проведений порівняльний аналіз між отриманими даними у крові і гомогенаті легень показав односпрямованість процесів вільнорадикального окиснення. Прогресуюче підвищення рівня ДК, ТК та ТБК-активних продуктів відбувалось як у сироватці крові, так і в гомогенаті легень.

Встановлено, що при ГУЛ, незважаючи на односпрямованість змін досліджуваних показників ПОЛ, вільнорадикальні процеси активуються, насамперед, безпосередньо у вогнищі ураження, зокрема у легенях, а далі ці продукти потрапляють вторинно у гуморальні середовища організму, такі як кров. Тому у 2-ій дослідній групі рівень ТБК-активних продуктів у крові не відрізнявся від даних 1-ої групи. Даний факт підтверджений і в дослідженнях інших авторів. Бобирєв В.Н. та співавт. [357], вивчаючи рівень вільнорадикального окиснення ліпідів у різних тканинах інтактних щурів і кролів (аорта, печінка, мозок, міокард, сім'яники, плазма крові) встановили, що у крові вміст продуктів ПОЛ порівняно з іншими тканинами найнижчий. Цікавим є й те, що при даній моделі відмічалось посилення оксидативних процесів і в БАЗ, що проявлялось зростанням ДК та вторинних ТБК-активних продуктів ПОЛ. Проте на відміну від сироватки крові та гомогенату легень у перші 2 год ураження у БАЗ рівень досліджуваних показників не відрізнявся від контролю.

Отже, в умовах моделювання ГУЛ суттєво посилюються процеси ліпопероксидації як у сироватці крові, так і в гомогенаті легень та БАЗ. Враховуючи розвиток артеріальної гіпоксемії, отримані зміни ПОЛ обумовлені передусім гіпоксією і належать до її класичних проявів [62, 294]. Проте на активацію вільнорадикальних процесів може вплинути також

механізм деструкції альвеол із розвитком запалення, вогнище якого теж може стати джерелом первинних і вторинних продуктів ПОЛ [305, 306].

Відповідно до аналізу отриманих даних можна свідчити про те, що в ранній фазі ГУЛ показовими щодо порушень у системі ПОЛ є гомогенат легень. У пізніші терміни легеневого пошкодження в якості діагностичного критерія дисбалансу про- та антиоксидної системи можна використовувати показники ПОЛ у сироватці крові та БАЗ, причому зміни у цих біологічних рідинах відбуваються односпрямовано і співдружно. Важливим є й те, що ГУЛ, викликане інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, при відсутності збудника, відбувається з участю вільнорадикальних процесів, що вказує на універсальність і неспецифічність його розвитку.

Зростання рівня ПОЛ може призводити до порушення структури мембран (їх лабілізації та зростання протонної провідності), пригнічення мембранопов'язаних процесів, один з яких – окисне фосфорилювання. Оскільки за ішемії спостерігається дефіцит убихінону, то це може сприяти інтенсифікації ПОЛ і деструкції мембранних структур, у тому числі й мітохондрій [487].

Адаптаційні процеси на клітинному рівні супроводжуються не лише зміною активності енергопродукуючих ферментів, але і зміною функціонального стану клітинної мембрани, оскільки будь-який стресорний вплив на організм викликає активацію пероксидних процесів – оксидативний стрес. Для оцінки ступеня оксидативного ушкодження різних компонентів клітини за умов оксидативного стресу визначають ступінь окиснюваності білків. Встановлено, що ОМБ за дії АФК приводить до утворення додаткових карбонільних груп у бічних ланцюгах амінокислот [488, 489]. Вважається, що деструкція білків є надійнішим маркером окиснювальних пошкоджень тканин, ніж ПОЛ, оскільки продукти ОМБ стабільніші, порівняно з пероксидами ліпідів, які швидко метаболізуються під дією пероксидаз та низькомолекулярних антиоксидантів [490]. Відомо, що відновлення окиснювальних білків практично не відбувається. Вони

стають мішенню для дії специфічних нейтральних та лужних протеаз, активність яких залежить від багатьох факторів [491].

Згідно отриманих даних виявлено, що як у сироватці крові, так і в гомогенаті легень мало місце підвищення вмісту альдегідо- і кетоніохідних основного і нейтрального характеру у всіх групах спостереження у порівнянні із контрольною групою ($p > 0,01$).

Порівнюючи рівень альдегідо- і кетоніохідних основного й нейтрального характерів, можна стверджувати про односпрямовані їх зміни, які вказують на глибоке ураження білкової структури при даній моделі ГУЛ.

Проведений кореляційний аналіз альдегідо- і кетоніохідних основного й нейтрального характерів у сироватці крові й гомогенаті легень свідчить про прямий кореляційний зв'язок середньої сили в усіх групах спостереження.

Отримані результати співпадають з даними літератури, які вказують на підвищення показників пероксидного окиснення білків у крові та БАЗ у хворих у критичних станах [492].

Враховуючи, що за умов гіпоксії, яка розвивається при ГУЛ, відбувається порушення процесу окисного фосфорилування та дії дихального ланцюга в мітохондріях, нами встановлено зростання АФК, до яких є чутливими білки мембран. Внаслідок дії АФК утворюються первинні амінокислотні радикали, які вступають у вторинні взаємодії із сусідніми амінокислотними залишками, що вказує на складну ушкоджуючу дію АФК на білкові макромолекули [417]. Модифікація амінокислотних залишків у білках призводить до глибоких змін білкової структури, що проявляється агрегацією та фрагментацією білків, підданих дії АФК, внаслідок чого білки стають чутливими до протеолітичної деградації. Утворення пероксидних молекулярних продуктів поліненасичених ацилів зумовлює ушкодження ліпідного матриксу біомембран, ОМБ і порушення біофізичних властивостей мембранних білків, і як наслідок, виникають глибокі зміни ферментних та іоно-транспортних властивостей мембран, що є одним з предикторів

програмованої та індукованої клітинної смерті [414-416]. Дані зміни поглиблюють й ускладнюють перебіг ГУЛ.

Отже, за умов експериментального ГУЛ спостерігається висока інтенсивність окиснювальних модифікацій білків і ліпідів крові, що може бути пов'язано із збільшенням АФК. Дослідження цих показників може слугувати критерієм для визначення ступеня ураження та прогнозу захворювання. Показано, що в перші години захворювання ОМБ проявляють антиоксидні властивості, сприяючи відновленню окисного потенціалу клітини за рахунок активації СОД, чим обмежують вільнорадикальні процеси. Проте через 12 год експерименту відбувається виснаження резервно-адаптаційних можливостей організму, і відповідно активація ОМБ на цьому етапі виступає додатковим джерелом вільних радикалів, інактивує антиоксидантні ферменти та сприяє поглибленню вільнорадикального окиснення.

Дослідження останніх років та наші власні дослідження патогенетичних ланок ГУЛ вказують на інтенсифікацію процесів вільнорадикального окиснення [493] внаслідок неконтрольованої генерації АФК, які продукуються також при активації таких ферментів, як NO-синтаза (NOS). У легенях NO виробляється під впливом конститутивної NOS (сNOS) в ендотеліальних клітинах легеневої артерії та вени. У ряді клітин, наявних у легенях і здатних виробляти NO, включаючи макрофаги, нейтрофіли, гладкі клітини, ендотеліальні, гладком'язові, епітеліальні клітини і, можливо, клітини інших типів, представлена експресія індукцйбельної NOS (іNOS). Пізніші дослідження показали, що в дихальних шляхах сNOS характеризується високою гомологічністю до іNOS та міститься в епітеліальних клітинах [494].

Утворення ендогенного NO може розглядатися в якості механізму, який підтримує сталість стану гладких міоцитів у легеневій циркуляції, і, відповідно, недостатність синтезу або ж вивільнення NO зумовлює надмірну їх проліферацію. Проведені наукові дослідження вказують на те, що в

нормальному легеневому руслі NO не лише сприяє адекватній вазодилатації, але й протидіє вазоконстрикторній дії гіпоксії й ендотеліну [49, 495]. Втрата ендотелій-залежної релаксації судинами під час гіпоксії зумовлює підвищення їх тонусу, утворення тромбів, порушення мікроциркуляції, що приводить до проліферації гладких міоцитів [147].

Літературні дані свідчать про те, що при запальних захворюваннях органів дихання зростає утворення NO в епітелії дихальних шляхів людини [320]. Синтез NO зростає за рахунок активації iNOS під впливом макрофагальних цитокінів, що включають й інші клітинні структури в активне утворення медіаторів запалення, а також ендотоксикозу. Запальні медіатори, що виділяються мастоцитами, і гіперпродукція NO сприяє підвищенню проникності суднової стінки з формуванням інтерстиційного та альвеолярного набряку [496].

Встановлено, що концентрація нітрит-аніону у сироватці крові експериментальних тварин з ГУЛ протягом 24-ох год спостереження зростає на 89,1 % порівняно з контролем, що свідчить про активацію генерації NO, яка може бути пов'язана з активацією експресії гену NOS, підвищенням кількості L-аргініну, зростанням ПОЛ та пригніченням антиоксидного захисту, що підтверджено нашими дослідженнями та рядом авторів [311]. Характеризуючи кількість нітрит-аніону у гомогенаті легень експериментальних тварин з ГУЛ, слід зазначити, що ця величина зростала протягом всього терміну спостереження.

Цікавим було й те, що порівнюючи динаміку нітрит-аніону у сироватці крові та гомогенаті легень виявлялися односпрямовані зміни даного показника, проте на відміну від рівномірного поступового зростання NO_2^- у сироватці крові, у легнях відмічалось різке зростання нітрит-аніону на 12 год дослідження, яке трималося протягом доби. Це свідчить про залучення до патогенетичного каскаду HCl-індукованого ГУЛ ендотеліальних механізмів. На це вказує активація ендотеліального розслаблюючого фактору, основним

діючим фактором якого є оксид азоту, що регулює місцевий судинний тонус та кровоплин.

Проведений кореляційний аналіз вказав на тісний прямий взаємозв'язок нітрит-аніону в крові та гомогенаті легень, який набував сили в міру розвитку ГУЛ. Це вказує на те, що зростання оксиду азоту в легенях зумовлює відповідні зміни в сироватці крові.

В умовах оксидативного стресу NO взаємодіє з супероксидним аніоном, у результаті чого утворюється пероксинітрит. Саме з ним пов'язана пошкоджуюча дія NO на біологічні макромолекули, зокрема білки та ліпіди, що, у свою чергу, призводить до зрушення рівноваги між процесами інактивації АФК, яке зумовлює порушення структури і функції клітинних мембран та закінчується загибеллю клітини [494].

Оксид азоту відіграє подвійну роль як внутрішньоклітинний месенджер і цитотоксичний агент, що опосередковує багато патологій, таких як ГУЛ. Механізми розвитку таких ушкоджень пов'язані з АОЗ і ПОЛ, що можна трактувати як важливий механізм контролю продукції АФК за умов дії фізіологічних і патофізіологічних чинників [497].

Підтримка оптимального редокс-стану клітин потребує адекватного функціонування систем АОЗ. Існують дані як про активацію АОЗ клітин за умов накопичення продуктів ПОЛ, так і про різке незворотне інгібування активності антиоксидантних ферментів [498].

Завдяки своїй унікальній структурі легені стають вразливою мішенню під час легеневих уражень. Генерація активних форм кисню та азоту, які прямо чи опосередковано проявляють свою дію, є головним фактором запальних ушкоджень [484]. Інактивація вільних радикалів здійснюється антиоксидною системою, яка включає в себе активні антиокислювачі та антиоксидантні ферменти, котрі розривають ланцюги молекул під час реакції вільнорадикального окиснення [147]. У надепітеліальній рідині респіраторних шляхів є неферментні антиоксиданти – церулоплазмін, трансферин, вітаміни, амінокислоти, іони металів. До основних ферментів

антиоксидантної системи, що містяться в надепітеліальній рідині дихальних шляхів, відносять СОД, яка дисмутує супероксидний радикал, глутатіонпероксидазу, що інактивує пероксидацію ліпідів, каталазу, яка руйнує пероксид водню. Зміни структури і функції субстратів, на які діють активні форми кисню й азоту залежать, загалом, від співвідношення активності вільних радикалів та антиоксидантів. Потрібно зауважити, що при гострих легневих ураженнях АОЗ швидко виснажується, а надмірна продукція активних метаболітів кисню може мати руйнівний вплив на епітеліоцити й інші клітини легеневої тканини, що є одним з основних факторів тяжкості захворювань органів дихання [361, 499].

Ключовим ферментом антирадикального захисту, який дисмутує супероксид-радикал до менш токсичного пероксиду водню є СОД. Протягом спостереження зміна СОД мала коливальний характер і до кінця доби зменшилась на 33,1 %. Схожі зміни проходили і в легенях, рівень СОД набув максимальних значень через 12 год експерименту, проте через 24 год він вірогідно не відрізнявся від контролю.

Іншим показником антиоксидної системи є каталаза, яка запобігає утворенню пероксиду водню, що відбувається за дисмутації супероксидного аніону та в інших реакціях. Встановлено, що протягом 12 год спостереження рівень даного показника коливався статистично незначимо. Кардинально інші результати отримані у 5-ій групі, які вказують на зниження активності каталази на 37,6 % відносно 4-ої групи та на 23,6 % відповідно до контролю ($p < 0,001$). У гомогенаті легень відмічено наростання активності каталази в 2-ій, 3-ій та 4-ій групах, причому встановлено зростання активності каталази через 6 і 12 год спостереження ($p < 0,001$). Через 24 год дослідів відбулося зниження даного показника на 28,2 % стосовно 4-ої групи. Проведений порівняльний аналіз СОД у сироватці крові та гомогенаті легень показав односпрямованість змін даного показника, який досягав максимуму через 6 год, а через 12 год дослідів відбувалося виснаження антиоксидантних резервів у крові й легенях.

Виявлені зміни активності СОД і каталази мають спільні риси, які проявляються компенсаторною реакцією у перші години ГУЛ, максимальним напруженням антиоксидантних механізмів на 6 год експерименту та виснаженням антиоксидантних резервів у крові та гомогенаті легень через 12 год досліду.

Особливу роль у системі АОЗ організму відіграє білок церулоплазмін, який є головним позаклітинним антиоксидантом. За фізіологічних умов церулоплазмін крові інгібує близько 50% всієї активності ПОЛ сироватки крові [362]. Більша частина церулоплазміну синтезується гепатоцитами печінки та епітеліоцитами легень [363]. Антиоксидантна та антигіпоксична його дія обумовлена активацією ендогенних систем, забезпечує захист організму від гіпоксії [363-365].

При HCl-індукованому ГУЛ у сироватці крові встановлено на початку зростання церулоплазміну ($p < 0,001$), що очевидно, пов'язано із явищами розвитку системної відповіді організму на запалення, оскільки він належить до гострофазових білків. Через 12 год відбувалося поступове зниження церулоплазміну, концентрація якого в 5-ій групі була приблизно на 20 % меншою результатів 4-ої групи ($p < 0,001$). При цьому іншими дослідженнями встановлено, що зниження церулоплазміну у крові обумовлено підвищеною проникністю альвеолярного епітелію та рухом цього ферменту з крові у легені [366, 367].

Важливу роль в АОЗ організму відіграють тіолдисульфідні сполуки. До них належать глутатіон, що утворений цистеїном, глютаміном і гліцином, SH- і SS-групи білків і ферменти глутатіонтрансфераза, глутатіонпероксидаза і глутатіонредуктаза. У фізіологічних умовах ця система чітко врівноважена [363, 364]. При вираженому оксидативному стресі можливе зрушення у системі SH/SS у напрямку зменшення вільних SH-груп і накопичення у подальшому продуктів пероксидного окиснення ліпідів і білків, що, у свою чергу, посилюватиме оксидативний стрес. Опубліковано ряд робіт, автори яких першочергову роль відводять саме

тіолдисульфідній системі у захисті організму від вільнорадикального пероксидного окиснення, зокрема зниження пероксиду водню та пероксинітриту, що виробляються активованими нейтрофілами при легневих ураженнях [365-371]. Встановлено, що протягом часу спостереження рівень SH-груп у сироватці крові поступово знижувався і в 5-ій групі він на 40,2 % нижчий даних контролю ($p < 0,001$).

Зниження вмісту церулоплазміну та SH-груп в 5-ій дослідній групі можна також пояснити неспроможністю печінки утворювати їх, адже науковцями показано, що при ГУЛ та його тяжкій формі ГРДС при світлооптичному дослідженні мікропрепаратів печінки тварин виявлено стромальний набряк, дистрофію та некробіотичні зміни гепатоцитів, що свідчить про ішемічні розлади у печінці [459].

Для проведення порівняльної характеристики змін системи АОЗ у крові, було прирівняно показники 1-ої групи (контроль) до 100 %. Встановлено, що зміни досліджуваних показників мали схожий коливальний характер. До 6 год експерименту відбувалася активація АОЗ організму, причому найяскравіші зміни стосувалися активації СОД і церулоплазміну. Проте через 12 год дослідження антиоксидантні резерви вичерпувались і відбувалося зниження активності основних сполук антиоксидантного захисту. В 5-ій дослідній групі найнижчих цифр досягали СОД і каталаза, що свідчить про ймовірно їх важливу роль у механізмі про- антиоксидного дисбалансу в патогенезі ГУЛ.

Такі зміни можна розцінити як компенсаторно-захисну реакцію антиоксидної системи у відповідь на інтенсифікацію процесів пероксидації.

Для визначення сумарної антиоксидантної активності інгібіторів вільнорадикальних реакцій, які присутні у плазмі крові, досліджено рівень ЗАОА, яка протягом часу спостереження зменшилась практично вдвічі.

Проведений кореляційний аналіз показав, що ферменти СОД і каталаза позитивно корелювали між собою в усіх дослідних групах, причому в 2-ій та 4-ій групах був зв'язок середньої сили, а в 3-ій та 5-ій групах встановлено

сильний кореляційний зв'язок. Це може бути пов'язано з переключенням потоку електронів з одного ланцюга транспорту на інший. У цих умовах СОД і каталаза діють як ланцюги однієї системи утилізації вільних радикалів. Важливим моментом ефективності ферментної ланки антиоксидантної системи є збалансованість активності СОД і каталази, причому пригнічення одного з ферментів веде до зниження активності іншого, внаслідок чого відбувається надмірна генерація АФК та деструкція клітин [372, 373].

Позитивний кореляційний зв'язок встановлено також між ферментами СОД, каталазою і білком церулоплазмінном ($p < 0,05-0,01$). Відомо, що СОД і каталаза являються внутрішньоклітинними антиоксидантами, тоді як церулоплазмін проявляє свою активність у сироватці крові [374]. Відповідно механізм дії церулоплазміну полягає у видаленні токсичних радикалів супероксидного аніону, що є продуктом аеробного метаболізму, за рахунок його електроноакцепторних властивостей [375]. Наше дослідження показало, що при експериментальному ГУЛ відбувається односпрямоване та співдружне посилення внутрішньоклітинних та позаклітинних антиоксидантних властивостей ферментів.

Відомо, що SH-групи білкових молекул, в основному відновленого глутатіону, одними з перших беруть участь у нейтралізації вільних радикалів та токсинів. Цей процес відбувається безперервно, що супроводжується посиленням утворенням відновленого глутатіону, який, очевидно, у фізіологічних умовах пропорційний до накопичення вільних радикалів [500]. Проведений кореляційний аналіз SH-груп з іншими показниками АОЗ показав достовірний обернений помірний зв'язок із СОД, каталазою і церулоплазмінном у 3-ій дослідній групі. Відомо, що при дії різних стресових чинників спостерігається зворотня окиснювальна модифікація SH-груп, яка зумовлює збільшення дисульфідних груп, що є типовою неспецифічною реакцією організму на дію екстремального подразника [501]. В нашому випадку інтратрахеальне введення хлоридної

кислоти можливо зумовило реактивне зменшення SH-груп. Зниження рівня SH-груп у сироватці крові може бути обумовлено його затратами не тільки на нейтралізацію вільних радикалів, але й на утворення парних сполук із продуктами ендогенної інтоксикації. Також виявлено прямий помірний зв'язок SH-груп з іншими досліджуваними показниками в 5-ій експериментальній групі, що може свідчити про недостатність як ферментних, так і неферментних механізмів антиоксидантного захисту через 24 год ГУЛ.

Звертає на себе увагу відмінність у динаміці ключових ферментів системи АОЗ – СОД і каталази, та ЗАОА. Це вказує на те, що активність цих ферментів в перші 6 год ураження ще не дає об'єктивної характеристики ЗАОА, яка є вагомішою для характеристики стану антиоксидної системи. Враховуючи виявлені нами односпрямовані зміни SH-груп та ЗАОА, можна стверджувати про наявність неферментного характеру АОЗ. Підвищена активність ферментів має невелике значення у загальному протиокисному процесі у перші години ГУЛ. Тому в цей період доцільніше визначати ЗАОА, яка вказує на стан захисних механізмів організму. Проведений кореляційний аналіз показав прямий середньої сили взаємозв'язок між ЗАОА та показниками системи АОЗ у крові, що свідчить про зниження антиоксидної системи організму і активацію вільнорадикальних процесів.

У крові спостерігалось поступове зниження інтегрального індексу Ф, який характеризує співвідношення про- та антиоксидних потенцій крові, протягом часу спостереження, що мало спільні риси з отриманими результатами ЗАОА.

З метою узагальнення отриманих результатів, які свідчать про розвиток оксидативного стресу при експериментальному ГУЛ, був проведений кореляційний аналіз показників вільнорадикального окиснення, нітросидергічних механізмів та системи АОЗ у патогенезі даного синдрому.

Під дією певного етіологічного чинника, в нашому випадку хлоридної кислоти, фагоцити (макрофаги, нейтрофіли) починають продукувати АФК. Внаслідок активації процесів вільнорадикального окиснення починається пошкодження білків, ліпідів і нуклеїнових кислот власних тканин організму. Наростання продукції АФК стримується завдяки функціонуванню АОЗ організму, причому в нормі існує баланс АФК/антиоксиданти з переважанням останніх [377, 378].

Проведений кореляційний аналіз про- та антиоксидної системи у крові та гомогенаті легень у щурів за умови ГУЛ показав взаємозв'язок між ними: для зменшення токсичності продуктів ПОЛ активується система АОЗ, досягаючи максимального напруження через 6 год спостереження. У наступних дослідних групах втрачається взаємозв'язок між даними показниками та порушується баланс в сторону переважання вільнорадикальних процесів.

Важливим є також визначення ролі ОМБ у патогенезі ГУЛ. Для цього було досліджено взаємозв'язок альдегідо-кетоніохідних нейтрального характеру з ТБК-активними продуктами як показником ПОЛ та СОД як ферментом системи антиоксидантного захисту. Кореляційний аналіз показав прямий зв'язок середньої сили модифікованих білкових молекул нейтрального характеру з ТБК-активними продуктами ПОЛ після 12-ти год спостереження, а також позитивний зв'язок середньої сили ОМБ з СОД у перші 6 год дослідження як у крові, так і в гомогенаті легень.

При співставленні коефіцієнтів кореляції між дослідженими показниками встановлено, що ОМБ відображає взаємозв'язок між складовими оксидативної рівноваги на ранніх етапах ГУЛ. Імовірно, що у перші години розвитку процесу, модифіковані білкові молекули проявляють антиоксидні властивості, сприяючи відновленню оксидативного потенціалу клітини за рахунок активації СОД, чим обмежують вільнорадикальні процеси. Проте через 12 год експерименту відбувалося виснаження резервно-адаптаційних можливостей організму і ОМБ в 4-ій і 5-ій

експериментальних групах стали маркерами окиснювальних пошкоджень тканин. Відповідно активація ОМБ, яка стимулює ПОЛ, є додатковим джерелом вільних радикалів, інактивує антиоксидантні ферменти та сприяє поглибленню вільнорадикального окиснення.

Іншим чинником, який призводить до зрушення рівноваги між процесами інактивації АФК, є оксид азоту. З одного боку, процес утворення оксиду азоту можна розглядати як захисну реакцію ендотелію, у тому числі й легеневого, на медіаторну агресію, що призводить до релаксації звужених судин та бронходилятації. З іншого, надмірне утворення метаболітів оксиду азоту, неконтрольована генерація АФК створює передумови для утворення пероксинітриту. Літературні дані свідчать про те, що саме з пероксинітритом пов'язане пошкодження білків [172]. Проведений кореляційний аналіз показав, що нітрит-аніон та ОМБ тісно пов'язані між собою як у крові, так і в гомогенаті легень. У крові щурів із ГУЛ встановлено помірний взаємозв'язок між рівнем метаболітів оксиду азоту та рівня модифікованих білкових молекул нейтрального характеру. Також виявлено прямий кореляційний зв'язок між рівнем нітрит-аніону та ОМБ нейтрального характеру у гомогенаті легень впродовж періоду спостереження.

Власне, нітрозилування сульфгідрильних центрів у білках є найбільш характерною особливістю модифікуючої дії оксиду азоту та пероксинітриту, наслідком чого є підвищення білків до протеолітичної деградації. На фоні підвищеної протеїназної активності вказані передумови, за рахунок вивільнення лізосомальних ферментів (еластази, колагенази та ін.), сприяють процесам руйнування клітин, у тому числі й альвеоло-капілярної мембрани [379]. Враховуючи, що за умов гіпоксії відбувається порушення процесу окисного фосфорилювання та дії дихального ланцюга у мітохондріях, слід відмітити зростання АФК, до яких є чутливими білки мембран.

Важливим є також встановлення зв'язків між метаболітами оксиду азоту і показниками АОЗ у патогенезі ГУЛ. Літературні джерела свідчать

про те, що оксид азоту підвищує АОЗ шляхом стимуляції активності СОД, тоді як при дефіциті СОД підвищений синтез оксиду азоту може проявляти цитотоксичну дію, пов'язану з утворенням пероксинітритів [147]. У нашому дослідженні встановлено компенсаторне зростання активності СОД у перші 6 год ураження, а потім зниження активності цього ферменту, що може свідчити про гіперпродукцію вільних радикалів, зниження антиоксидного захисту та підвищення оксидативного стресу. З іншого боку, показано локальне та системне підвищення метаболітів оксиду азоту у щурів із модельованим ГУЛ. Оксид азоту в 3-ій групі виступає в якості ендogenous антиоксиданта, про що свідчить позитивна кореляція між нітрит-аніоном та СОД. Проте в умовах наростання оксидативного стресу цей взаємозв'язок втрачається, що свідчить про ймовірну трансформацію оксиду азоту і його метаболітів у цитотоксичний пероксинітрит, що проявляє цитотоксичну дію.

Таким чином, зсув метаболізму оксиду азоту у бік утворення пероксинітритів в умовах активації процесів вільнорадикального окиснення та дефіциту АОЗ може бути використаний як додатковий маркер у потенціюванні розвитку ГУЛ.

Протягом останнього десятиліття особлива увага в патогенезі багатьох захворювань приділяється синдрому ендogenous інтоксикації [392]. Різноманітний комплекс пошкоджуючих факторів зумовлює активацію катаболічних процесів, зниження детоксикаційної здатності організму, накопичення МСМ, які є проміжними продуктами протеолізу, та розвиток синдрому «метаболічної інтоксикації», що призводить до виражених функціональних порушень і морфологічних пошкоджень різних органів і систем, що є визначальним у танатогенезі [308, 503]. Особлива роль у протіканні патологічних біохімічних процесів належить МСМ, окремі фракції яких проявляють високу біологічну активність. Спектр патологічної дії МСМ має різноплановий характер. Вони порушують фізико-хімічні властивості клітинних мембран, пригнічують тканинне дихання й окисне фосфорилювання, інгібують АТФ-азну активність і синтез ДНК, активують

процеси ПОЛ з одночасним зниженням АОЗ, стимулюють клітинну проліферацію або її пригнічення в процесі апоптозу [504, 505]. Існує також думка про протекторні властивості МСМ [506].

Важливою ланкою розвитку і прогресування ГУЛ є гіперпродукція пероксидних сполук в умовах зниження антиоксидантних резервів та, як наслідок, дисбаланс утворення і використання продуктів ПОЛ [390]. В результаті, відбуваються порушення практично на всіх рівнях клітинного метаболізму, які охоплюють зміну фізико-хімічних властивостей мембранних білків і ліпідів, порушення проникності мембран, зниження електричної стабільності мембран, що проявляється зміною кислотно-лужної рівноваги, імунного статусу, рівня біологічно активних речовин, програмованої та індукованої загибелі клітин [391]. Науковцями досліджено розвиток ендотоксинемії при гострому ураженні легень, що виникає при непрямому їх пошкодженні, зокрема, панкреатиті, сепсисі. При цьому легені є однією з головних мішеней більшості відомих факторів тканинного пошкодження [393].

Механізми розвитку метаболічних порушень при ГУЛ складні, багатогранні і до цих пір залишаються незрозумілими, особливо при наявності великої кількості етіологічних чинників даної патології. У ряді досліджень, проведених у хворих із різними патологічними станами, було виявлено підвищення рівня МСМ як у сироватці крові, так і в інших фізіологічних рідинах – сечі, слині та ін., що наштовхнуло нас на думку провести дослідження рівня ендотоксикозу при аспіраційному ураженні у бронхоальвеолярному змиві [389, 390].

Вираженість ендотоксикозу визначають за вмістом у крові гідрофільних і гідрофобних продуктів. До гідрофільних компонентів ендогенної інтоксикації відносяться МСМ, які утворюються внаслідок підвищеного протеолізу і володіють пошкоджуючою дією на організм у зв'язку з високою функціональною активністю [394]

Порівнюючи отримані дані вмісту МСМ/254 і МСМ/280, можна говорити про односпрямовані зміни МСМ при різних довжинах хвилі, які характеризуються достовірним зростанням протягом 24 годин спостереження, що свідчить про наростання ЕІ.

Основна причина накопичення МСМ у сироватці крові пов'язана з посиленням їх утворенням за рахунок появи надлишкової кількості деформованих білкових метаболітів і продуктів, які мають у своєму складі вуглеводні компоненти [504, 507]. Раніше нами було доведено, що при ГУЛ має місце зростання продуктів окиснювальної модифікації білків нейтрального й основного характеру, що є основним токсичним субстратом. Багато авторів вважають середньомолекулярні олігопептиди основним біохімічним маркером, що відображає рівень порушення білкового метаболізму. МСМ можуть мати схожість будови з регуляторними пептидами, чим впливати на життєдіяльність всіх органів і систем, здатні з'єднуватись з рецепторами на будь-якій клітині, блокуючи їх, тим самим виконуючи патологічну роль. При цьому встановлено, що накопичення в організмі ендотоксинів веде до порушень гемодинаміки, проникності мікросудин, функції дихальних ферментів, а також до метаболічного ацидозу на фоні структурних ушкоджень органів, зокрема легень, тканин, клітин та клітинних органел з виходом лізосомальних ензимів [393, 508, 509].

У дослідних групах встановлено відмінність МСМ/254 і МСМ/280 в БАЗ стосовно даних у крові, що вказує на один з факторів розвитку ГУЛ, зокрема порушення сурфактантної системи, транскапілярного обміну рідини, розвиток мембранодеструктивних процесів, і, як наслідок, підвищення надходження у кровотік токсичних речовин.

Проведений кореляційний аналіз даних рН крові та МСМ/254 в БАЗ показав негативний взаємозв'язок середньої сили між досліджуваними показниками у 2-ій ($r=-0,76$) та 3-ій ($r=-0,81$) ($p<0,05$) експериментальних групах. Зсув реакції середовища в кислу сторону за умови ГУЛ відбувається в результаті накопичення недоокислених продуктів вуглеводного і ліпідного

обміну. Респіраторний ацидоз, що розвинувся, сприяє лабілізації мембран лізосом, виходу в цитоплазму протеаз та протеолітичної деструкції тканини легень, у результаті чого підвищується інтенсивність пероксидного окиснення білків та ліпідів, що є основними чинниками ендотоксемії. З іншого боку, накопичення в організмі ендотоксинів веде до порушень гемодинаміки, проникності мікросудин, функції дихальних ферментів, а також до метаболічного ацидозу на фоні деструктивних ушкоджень легень. Це можна пояснити тим, що в умовах гіпоксії відновлення постачання легень киснем стимулює ПОЛ, зумовлюючи пошкодження клітин і провокуючи викид токсичних метаболітів, які є додатковим джерелом інтоксикації [510].

Відомо, що в розвитку ендотоксикозу при запальних захворюваннях легень важливу роль можуть відігравати продукти деструкції легеневої тканини. Встановлені нами порушення системи про- і антиоксидного захисту в умовах ГУЛ вказують на їх роль у патогенезі даного синдрому, проте важливим у прогресуванні ГУЛ є також розвиток поліорганної недостатності у зв'язку з токсичною дією продуктів протеолізу і ПОЛ на організм уцілому через виникнення ендотоксемії.

Важливу роль у розвитку ендогенної інтоксикації відіграють також продукти деструкції легеневої тканини, зокрема пероксидного окиснення білків та ліпідів, що зумовлює генералізацію процесу та розвиток поліорганної дисфункції. Про розвиток ендотоксикозу при експериментальному ГУЛ свідчить активація ДК, ТК та ТБК-активних продуктів та зниження ЗАОА.

Виходячи з наведених даних, ендотоксикоз займає одне з важливих місць у патогенезі ГУЛ, оскільки знижує функціональну активність регулювальних систем, ініціює процеси пероксидації, зумовлює накопичення їх дериватів, метаболітів з наступною дестабілізацією окиснювального фосфорилування, порушення функціонування клітинних мембран та розвиток поліорганної недостатності (рис. 7.1).



Рис. 7.1. Роль ендотоксикозу у патогенезі гострого ураження легень.

У нормі лімфоїдний апарат бронхоальвеолярного дерева представлений як специфічними, так і неспецифічними ланками імунної системи. Порушення функції Т-лімфоцитів у легнях зумовлює недостатню активацію альвеолярних макрофагів і порушення кооперативної взаємодії між Т- і В-лімфоцитами, внаслідок чого відбувається зниження продукції антитіл [394]. Дослідження клітинного імунітету показало відмінність отриманих результатів у крові та БАЗ. Дослідження показали, що в крові експериментальних тварин з модельованим ГУЛ протягом перших 24 год після ураження не спостерігалось достовірних змін між контрольною і дослідними групами. При цьому рівень загальних Т-лімфоцитів (CD3+) у 5-

ій групі складав $(42,1 \pm 2,4)$ % проти $(41,6 \pm 2,1)$ % у контролі. Поряд з тим результати отримані у БАЗ свідчать про зростання загальних Т-лімфоцитів, Т-хелперів і Т-супресорів у 4-ій і 5-ій дослідних групах, при цьому співвідношення CD4/CD8 практично не відрізнялось від даних контролю у всіх експериментальних групах. Отримані результати підтвердили можливий Т-залежний механізм ініціації ГУЛ. Дослідниками показано, що при інших моделях ГУЛ зменшення секреції ФНП- α макрофагами відбувається при виснаженні CD4⁺ Т-клітин [395], а також, що Т-клітини збільшують кількість нейтрофілів у БАЗ шляхом продукції ІЛ-17А [396], вважаючи, що лімфоцити можуть сприяти міграції НГ у легені. Отримані нами результати вказують на активацію клітинного імунітету на початкових етапах ГУЛ, індукованого інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, проте необхідно провести додаткові дослідження для встановлення конкретних механізмів порушення клітинного імунітету при ГУЛ.

Відомо, що у бронхах є плазматичні клітини, що продукують Іg А, а на периферії бронхіального дерева зростає кількість плазматичних клітин, які синтезують Іg G, основна функція яких – захисна [509]. При інтратрахеальному введенні хлоридної кислоти, відбувається токсичний вплив як на верхні відділи дихальних шляхів, так і на периферичні відділи легень із розвитком системної запальної реакції, що опосередковано зумовлює зростання імуноглобулінів класу А і G у периферичній крові.

Ушкоджуюча дія Іg G на легеневу тканину обумовлена активацією системи комплементу з наступним залученням нейтрофілів в імунну відповідь. Нейтрофіли є відповідальними за подальше ураження тканини за рахунок генерації і реалізації токсичних АФК, і, напевне, за рахунок дії лізосомальних протеаз. У дослідженнях нами показано, що при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, зростає рівень метаболітів оксиду азоту, пероксидного окиснення білків та ліпідів [511]. Ушкоджуюча дія Іg А на легеневу тканину обумовлена активацією системи комплементу без залучення нейтрофілів в імунну відповідь. Іншим

фактором можуть бути альвеолярні макрофаги, які здатні активувати продукцію достатньої кількості токсичних кисневих радикалів [512]. Дана гіпотеза може бути реалізована через систему комплементу: кількість продуктів активованого комплементу може бути недостатня для залучення нейтрофілів у патологічний процес, але достатньою для активації альвеолярних макрофагів, що зумовлює генерацію вільних кисневих радикалів, які токсичні для легень. Отримані нами попередні результати підтверджують припущення про регіонарну секвестрацію нейтрофілів у легенях за умови ГУЛ та ГРДС.

Отримані дані вказують на імунну відповідь при ГУЛ у вигляді зростання В-лімфоцитів, проте не відбувається зростання Ig M, тоді як Ig G підвищується вже на ранній стадії захворювання, що може свідчити про наявність імунодефіциту. Певну роль у підвищенні рівнів Ig A та Ig G може відігравати той факт, що вогнищем ураження є легені, де власне і синтезуються дані імуноглобуліни.

Однією з важливих фізіологічних функцій імуноглобулінів є нейтралізація антигенів, у тому числі й аутоантигенів, з утворенням ЦК та наступною їх елімінацією з організму. Але за певних умов ЦК можуть фіксуватися у судинній стінці та під базальними мембранами у деяких внутрішніх органах, включаючи й легені, і викликати запальну реакцію [509, 510]. Тому проблемі дослідження ЦК повинна приділятися значна увага, як одній з важливих ланок патогенезу імунного ураження органів та тканин організму.

Встановлені зміни вказують на гіперреактивність В-клітин, а також на порушення механізмів елімінації ЦК. Потрібно зауважити, що зростання ЦК може бути непрямою ознакою активації комплементу, який веде до пошкодження тканин. Сформовані циркулюючі імунні комплекси взаємодіють практично зі всіма клітинами крові, з комплементом, а також рецепторами багатьох клітин органів і тканин [513]. Взаємодія ЦК з імунокомпетентними клітинами призводить до модуляції імунної відповіді.

Так, при взаємодії з моноцитарно – макрофагальними клітинами відбувається вихід протеолітичних ферментів, а при активації комплементу зростає продукція кінінів, анафілатоксинів, опсонінів, хемотаксинів, що має пошкоджуючий вплив на тканини [514].

Рівень імуноглобулінів у сироватці крові щурів відображає реакцію первинних та вторинних лімфоїдних органів на фактори ендогенної інтоксикації. Відомо, що адекватна імунна відповідь базується на балансі клітинно-опосередкованих та гуморальних імунних реакцій, розвиток яких підтримується та регулюється цитокінами. Зміна продукції чи рецепції цитокінів призводить до дисбалансу імунних процесів, зниження імунологічної резистентності.

Цитокіни посідають важливе місце серед великої кількості гуморальних медіаторів, що регулюють каскад біохімічних та імунологічних процесів і є основою запалення. Зміна їх рівня характеризує не тільки переважний напрямок імунної відповіді, яка визначається за активністю різних субпопуляцій Т-лімфоцитів-хелперів (Th1- та Th2-типів клітин), а й асоціюється з активністю та прогресуванням запалення. Гіперреакцію імунної системи можна охарактеризувати завдяки визначенню здатності імунокомпетентних клітин синтезувати цитокіни, котрі беруть участь у запуску імунної відповіді, у розвитку запалення.

У даний час нема сумнівів, що при легневих ураженнях реалізація специфічних і неспецифічних імунних реакцій пов'язана з впливом на різні гомеостатичні системи організму цілого ряду універсальних медіаторів, серед яких важливе місце займають цитокіни [431]. Цитокіни продукуються у легенях власними клітинами, зокрема альвеолярними макрофагами, епітеліальними клітинами легень, або клітинами, що з'являються в легенях у відповідь на локальне чи системне ураження, а саме, нейтрофілами, лімфоцитами, моноцитами. Їх часто називають клітинними гормонами, оскільки вони взаємодіють із специфічними клітинними рецепторами, здійснюючи аутокринну, паракринну і ендокринну регуляцію [515].

Цитокіни пріоритетно діють у вогнищі запалення і на території реагуючих лімфоїдних органів, тому виникає необхідність дослідження інтерлейкінів у БАЗ та крові для вивчення локального та системного характеру запалення.

Проведений огляд літературних джерел показав, що при ГУЛ внаслідок інфекційної пневмонії цитокіни відіграють важливу роль у підтримці імунного гомеостазу, генерації захисного імунітету, а також репаративних процесах легень [516]. Багато робіт присвячено ролі прозапальних цитокінів у патогенезі ГУЛ, що модельоване введенням ліпопополісахариду, та методам їх корекції [517, 518]. Проведене клінічне дослідження показало, що проведення вентиляції легень знижує смертність хворих з ГУЛ на 22%, причому даний захисний ефект пов'язаний із зниженням числа нейтрофілів та концентрації прозапальних цитокінів у вогнищі ураження, що обумовлює необхідність встановити вклад цитокінів у патогенезі аспіраційного ГУЛ [519].

Відомо, що НГ виробляють прозапальні цитокіни, і разом із вільними кисневими радикалами відіграють важливу роль у патогенезі ГУЛ [520]. Попередні нами дослідження показали, що при моделюванні НСІ-індукованого ГУЛ у крові експериментальних тварин відмічався нейтрофільний гранулоцитоз протягом перших 6 год розвитку даної патології. З іншого боку, ІЛ-1 β може ініціювати активацію нейтрофілів під впливом певних ендогенних чи екзогенних факторів, зумовлюючи надмірну генерацію АФК, фагоцитоз та активацію протеолітичних ферментів. Встановлено, що зростання даного цитокіну в системному кровотоці свідчить про ймовірність поліорганної недостатності та є поганим прогностичним критерієм при інших моделях ГУЛ [521, 522]. Зокрема вказується на адаптаційний компенсаторно-приспосувальний характер гіперпродукції ІЛ-1 β моноцитарно-макрофагальними клітинами, нейтрофілами, лімфоцитами. Отже, високий рівень при НСІ-індукованому ГУЛ вказує на істотну роль ІЛ-1 β в патогенезі даної патології, являючись

пусковим фактором специфічної та неспецифічної відповіді організму на дію хлоридної кислоти.

Щоб отримати більш глибоке уявлення про патогенез ГУЛ, було досліджено рівень ІЛ-8, який є важливою ланкою цитокінової мультисистеми, необхідної для здійснення міжклітинної взаємодії - основи клітинного гомеостазу [398]. Відомо, що даний цитокін має хемоатрактантну активність і може зумовлювати активацію і дегрануляцію нейтрофільних гранулоцитів. ІЛ-8 продукується різними клітинами, в тому числі і нейтрофілами під впливом інших ІЛ, зокрема, ІЛ-1 β [296]. Проведений кореляційний аналіз даних ІЛ-1 β та ІЛ-8 у першу фазу НСІ-індукованого ГУЛ (2-га дослідна група) показав значимий сильний прямий корелятивний зв'язок, що підтверджує можливий вплив ІЛ-1 β на продукцію ІЛ-8. Підвищений рівень даного цитокіну в сироватці крові при ГУЛ відіграє певну роль у міграції нейтрофілів у легені, зумовлює інтегрин-опосередковану адгезію нейтрофілів до ендотелію, стимулює полімеризацію актину нейтрофілів [399].

У прозапальному каскаді ІЛ-6 знаходиться більш дистально. Клітинами-продуцентами ІЛ-6 є макрофаги, ендотеліоцити, Т-клітини. Системні ефекти ІЛ-6 є менш вираженими, ніж локальні, оскільки надмірне його надходження сприяє пошкодженню тканин.

Отже, при ГУЛ, модельованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, спостерігається односпрямована зміна прозапальних ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 у бік поглиблення реакцій системного запалення внаслідок активації і дегрануляції НГ у крові.

Проведене дослідження показало активацію продукції ІЛ-10 в перші 12 год експерименту, що може бути обумовлено викидом катехоламінів та глюкокортикоїдів у відповідь на стрес, індукований екзогенними чи ендогенними факторами, зокрема введенням НСІ, що підтверджується іншими дослідженнями [524]. До кінця першої доби моделювання ГУЛ

відмічалось виснаження протизапальних властивостей, що проявлялося зниженням концентрації ІЛ-10.

Досліджено, що у патогенезі ГУЛ цитокіни виступають в якості модуляторів запального процесу і регуляторів функцій основних клітин-ефекторів запалення, зокрема, НГ. Було припущено, що підвищений рівень ІЛ-1 β та ІЛ-8 у сироватці крові є наслідком їх надходження до системного кровотоку з легень, інтенсивність чого залежить від ступеня проникності легневих мембран, пошкодження яких відбувається при реалізації легеневого неспецифічного запалення.

У патогенезі захворювань органів дихання важливим є дослідження цитокінового статусу не тільки на системному рівні, але й на місцевому, що дозволить глибше з'ясувати механізми розвитку ГУЛ. Встановлено, що рівні альвеолярних та системних цитокінів гостро змінюються (у межах від 1 до 2 год) у відповідь на альвеолярне пошкодження, причому як у системному, так і регіонарному кровотоці [400]. На підставі даних досліджень була висунута гіпотеза, що легені виступають важливим органом продукції цитокінів, а також джерелом їх надходження до системного кровотоку.

Враховуючи здатність НГ виробляти прозапальні цитокіни та у сукупності з вільними кисневими радикалами, оксидом азоту відігравати важливу роль у патогенезі ГУЛ, наші дослідження показали, що при моделюванні НСІ-індукованого ГУЛ у БАЗ виявлявся прогресуючий лейкоцитоз з нейтрофільним гранулоцитозом.

Слід відмітити, що більшість прозапальних ефектів у БАЗ при ГУЛ належать ІЛ-1 β , який ініціює активацію нейтрофілів, 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. Дослідження показують, що гіперпродукція ІЛ-1 β НГ відбувається перш ніж ці клітини потраплять у легені [444]. Отже, високий рівень при НСІ-індукованому ГУЛ вказує на істотну роль ІЛ-1 β в патогенезі

даної патології, являючись пусковим фактором регіонарної відповіді організму на дію НСІ. При цьому відомо, що для синтезу ІЛ-1 β необхідна активація мембранних Toll-like рецепторів або внутрішньоклітинних NLR рецепторів, що супроводжується активацією ядерного фактору транскрипції NF- κ B і експресією генів ІЛ-1 β й інших прозапальних цитокінів. Активація цих рецепторів супроводжується збільшенням внутрішньоклітинного вмісту каспази-1, яка підвищує секрецію ІЛ-1 β у міжклітинний простір. Отже, можна припустити, що підвищений рівень ІЛ-1 β обумовлений активацією внутрішньоклітинної кіназної системи і системи факторів транскрипції.

Відомо, що ІЛ-6 відіграє провідну роль у стимуляції трансформації В-лімфоцитів в антитілпродукуючі клітини. На нашу думку, активація локальної імунної відповіді може бути обумовлена активацією пошкоджуючої дії оксидативного стресу на легеневу тканину і зростанням антигенної стимуляції.

Потужним та ефективним атрактантом щодо НГ є ІЛ-8, який синтезується як клітинами імунної системи (моноцитами, альвеолярними макрофагами, Т-лімфоцитами, нейтрофілами, природними кілерами), так і неімунними клітинами (ендотеліальними й епітеліальними клітинами), і відповідає за легеневу активацію гранулоцитів крові [398].

Встановлений кількісний дисбаланс між системним та регіонарним вмістом ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 може свідчити про ініціацію ІЛ-1 β активації НГ, надмірне споживання ІЛ-6 у каскаді запального процесу в легенях у механізмах руйнування легеневої тканини, а також про стимуляцію синтезу в легенях ІЛ-8, яка зумовлена процесами активації хемотаксису клітин фагальної системи до мікросудин легень [125]. Зростання концентрації ІЛ-8 при аспіраційному ГУЛ виникає у відповідь на гіперпродукцію ФНП- α або ІЛ-1 β . Щодо НГ, ІЛ-8 зумовлює їх дегрануляцію, підвищення внутрішньоклітинної концентрації кальцію, респіраторний вибух та сприяє приєднанню до ендотеліальних клітин. Відомо, що в процесі дегрануляції НГ у позаклітинний простір з первинних гранул цих лейкоцитів швидко

вивільняється нейтрофільна еластаза, яка забезпечує гідроліз таких ІЛ як ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8 та ряд інших, тим самим зменшуючи прозапальну дію [401, 402]. Це змусило нас дослідити взаємозв'язок між кількістю нейтрофільних гранулоцитів і рівнем досліджуваних прозапальних цитокінів.

Провівши порівняльний аналіз кореляційних зв'язків між рівнем ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8 та кількістю нейтрофільних гранулоцитів у БАЗ було встановлено вже у першу фазу ГУЛ (перші 2 год експерименту) позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між концентрацією досліджуваних цитокінів ($p < 0,05$), який набирає сили в 3-тій та 4-ій дослідних групах ($p < 0,01$). Між рівнем ІЛ-1 β та кількістю НГ встановлено позитивний кореляційний зв'язок середньої сили лише у 4-ій експериментальній групі, тоді як між концентрацією ІЛ-8 і кількістю гранулоцитів виявлено позитивний кореляційний зв'язок протягом всього часу спостереження.

Отже, отримані результати підтверджують сучасні літературні дані та наше припущення про те, що ІЛ-1 β при аспіраційному ГУЛ є ініціатором цитокінового каскаду, зокрема ІЛ-8 та ІЛ-6 [522]. Враховуючи значимий прямий кореляційний зв'язок між рівнем гранулоцитів та концентрацією ІЛ-8, можна припустити, що окрім нейтрофільної еластази, інші патогенетичні чинники пролонгують тривалість життя та біологічну активність даного хемокіну.

Відоме значення оксидативного стресу як важливого фактора розвитку запальних й аутоімунних процесів, у тому числі ГУЛ, проте залишається недостатньо вивченим взаємозв'язок активності процесів ПОЛ і пригнічення АОЗ із гіперпродукцією синтезу прозапальних цитокінів у патогенезі даного синдрому [403, 404]. Встановлена пряма залежність середньої сили між концентрацією ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 та вмістом ТБК-активних продуктів свідчить про взаємозв'язок між активацією процесів вільнорадикального окиснення та розвитком запального процесу у патогенезі ГУЛ.

Підвищення продукції оксиду азоту, який розглядають у якості маркера активності запального процесу [405] при критичних станах,

пов'язано з активацією продукції прозапальних цитокінів та акумуляцією їх у легенях, що ініціює синдром неспецифічного ураження легень. Це співпадає з літературними даними, які свідчать, що ендотеліоцити легеневих капілярів є важливим джерелом ІЛ-6, ІЛ-8 при розвитку ГУЛ [526].

Встановлена участь НГ у пусковому механізмі розвитку даного патологічного процесу, які в активованому стані утворюють та вивільняють кисневі радикали, секреторні дегранулянти, що мають пряму пошкодуючу дію на ендотеліальні клітини [527]. При цьому підвищується внутрішньосудинне зсідання крові та порушується регіонарна мікроциркуляція, що призводить до прогресивного зростання гранулоцитів у БАЗ [528]. Патогенетичними наслідками впливу біологічних компонентів системно–запального медіаторного каскаду є зміни легеневої ендотеліальної системи [529]. Отримані результати вказують на те, що ініціація міграції НГ у легені відбувається і за відсутності інфекційного агента, тобто це є універсальна неспецифічна реакція організму на патологічний процес.

Досліджено, що розвиток ГУЛ певним чином залежить від активності НГ, функція яких полягає у фагоцитозі та продукції АФК. У результаті нейтрофіли стають основним джерелом АФК, а їх гіперпродукція може призводити до порушення функцій, пошкодження і загибелі клітини внаслідок розвитку оксидативного стресу [528-530].

Здійснюючи статистичну обробку даних, ми прийшли до думки, що АФК у гепринізованій крові щурів з НСІ-індукованим ГУЛ практично відразу реагують з молекулами, що контактують з ними, а саме, з білками, мембранними ліпідами, причому їх високий рівень зберігається протягом перших 24 год експерименту. Звертає на себе увагу досить високе значення АФК у контрольній групі. Проте АФК володіють не лише цитотоксичною дією, але й можуть виступати в якості вторинних месенджерів при підтримці фізико-хімічних властивостей біологічних мембран, а також у регуляції таких клітинних реакцій як проліферація, диференціювання й апоптоз [530].

Легені внаслідок розвинутого русла мікроциркуляції на тлі підвищеної здатності НГ крові до киснезалежного метаболізму можуть виступати як орган-ураження першої лінії за умов секвестрації у легеневих мікросудинах активованих НГ та генерації ними АФК та NO, що ініціює процеси пероксидації на рівні базальних мембран альвеол та легеневих капілярів.

Наші дані підтверджують те, що при ГУЛ, модельованому інтратрахеальним введенням HCl, у легенях більш виражений оксидативний стрес, ніж у системному кровотоці. Враховуючи основну функцію нейтрофілів – фагоцитоз, вони швидко мігрують у зону ураження при появі певного патологічного чинника. Хлоридна кислота, яка виступає у даній моделі ГУЛ оксидантом, викликає у легенях полімеризацію актина нейтрофілів і знижує їх здатність до деформації, що зумовлює адгезію гранулоцитів до ендотелію. Накопичення активованих НГ у капілярній сітці альвеол та адгезія їх до ендотелію супроводжується генерацією АФК, що призводить до оксидативного стресу, наслідком якого є руйнування структурних елементів альвеол.

Протягом останніх років кількість захворювань, при яких індукується апоптоз, невпинно росте, і ця обставина посилює і без того сформовану думку про складність даного процесу. Проте залишаються сталими початкові етапи розвитку апоптозу, зокрема порушення мітохондріального дихання та виникнення оксидативного стресу [263]. При цьому ведеться активна дискусія щодо центральної ролі цитохрому С у розвитку апоптозу. Вихід цитохрому С з мітохондрій може відбуватися внаслідок збільшення об'єму матриксу мітохондрій і руйнування внутрішньої мембрани або в результаті утворення великих пор у внутрішній мембрані мітохондрій [532, 533]. Зміни трансмембранного потенціалу мітохондрій, який створюється електрохімічним градієнтом протонів по обидві сторони мембрани, та вивільнення з міжмембранного простору мітохондрій проапоптичних факторів внаслідок змін проникності мітохондріальної мембрани є основними механізмами внутрішнього шляху апоптозу. Встановлено, що

зниження мітохондріального потенціалу є однією із ознак незворотності апоптозу [534]. Отже, з'ясування порушень регуляції мітохондріального етапу апоптозу є важливим для розуміння механізмів розвитку ГУЛ.

При ініціації мітохондріального шляху апоптозу важливим є зниження трансмембранного потенціалу мітохондрій, що свідчить про відкриття так званого РТР каналу (Permeability Transition Pore) [535]. Відкриття неселективних пор пермеабілізаційного переходу між зовнішньою і внутрішньою мембранами мітохондрій зумовлює порушення функціонування дихальних комплексів, опосередковуючи запуск апоптогенної програми. Потрібно зауважити, що утворенню пор сприяє каспаза-8, яка активується при взаємодії ФНП- α з мембранозв'язуючими рецепторами цього цитокіну. У результаті відкриття РТР каналу розвивається набряк мітохондріального матриксу, розрив зовнішньої мітохондріальної мембрани і вихід цитохрому С, а також інших проапоптичних білків із міжмембранного простору у цитозоль [534].

Збільшення кількості клітин зі зниженим $\Delta\psi$ може бути наслідком накопичення у них АФК. Мітохондрія є первинним джерелом АФК і у випадку трансдукції, яка веде до активації апоптозу, мітохондрія може вивільняти проапоптичні молекули, що супроводжується зниженням $\Delta\psi$, що було зафіксовано нами при експериментальній моделі НСІ-індукованого ГУЛ. АФК виступають у ролі стресового чинника на енергетичний рівень клітини. Це зумовлює зниження АТФ, що призводить до посиленого синтезу АТФ і зниження електрохімічного градієнту [420, 536].

Причиною зниження $\Delta\psi$ при ГУЛ у тварин може бути також ФНП- α , який стимулює утворення ейкозаноїдів шляхом активації фосфоліпази А₂. У свою чергу, ейкозаноїди інгібують мітохондріальну СОД, що зумовлює накопичення супероксид-аніонів і пошкодження мітохондріальної мембрани [420].

Отримані результати вказують на те, що у НГ крові та БАЗ при хлоридному ГУЛ проникність мембран мітохондрій та механізми її регуляції

істотно змінені, що може бути пов'язано із порушеннями функціонування респіраторного ланцюга та шляхів утворення АТФ, надлишковій генерації АФК і змінами експресії та функції регуляторних білків, які беруть участь у мітохондріальному етапі апоптозу.

Наступним завданням нашої роботи стало встановлення зв'язку між рівнем апоптозу нейтрофілів тканини легень, БАЗ та крові у щурів за умови ГУЛ у динаміці.

Для оцінки реалізації апоптозу нейтрофілів легень, БАЗ та крові використовували ФІТЦ-мічений анексин V, який зв'язується з фосфатидилсерином на зовнішній поверхні плазмолемі [533] та пропідію йодид (PI), що визначає померлі клітини, з набору реагентів “ANNEXIN V FITC” (“Beckman Coulter”, США).

Під апоптозом розуміють енергозалежний процес смерті окремих клітин, що відбувається як у нормальних, так і в змінених тканинах організму та регулює оптимальну кількість клітин шляхом елімінації надлишкових чи функціонально аномальних клітин [420]. Проведені дослідження щодо рівня апоптозу у контрольній групі встановили, що ранній апоптоз нейтрофілів притаманний як легеням, так і крові. Можна припустити, що у легенях нейтрофіли відіграють ключову роль у підтриманні локального захисту і в більшій мірі контактують із речовинами антигенної природи, які здатні стимулювати у них апоптоз. Тому одним з механізмів, що дозволяє контролювати запальні реакції дихальних шляхів, можна вважати рівень апоптозу НГ, який найімовірніше підвищується за рахунок дії проапоптичних факторів, що утворюються у вогнищі запалення.

Існує декілька гіпотез щодо розвитку апоптозу при ГУЛ, а саме, нейтрофільна та епітеліальна теорії. Згідно першої гіпотези апоптоз нейтрофілів відіграє важливу роль у вирішенні запалення, при цьому зниження рівня апоптозу нейтрофілів чи зниження кліренсу апоптичних нейтрофілів є несприятливим для протікання ГУЛ [525, 537]. Епітеліальна гіпотеза припускає, що при ГУЛ пошкодження епітелію пов'язане з

апоптозом альвеолярних епітеліальних клітин у відповідь на дію таких медіаторів, як Fas-ліганд [538].

Проведені попередні дослідження рівня апоптозу при ГУЛ та ГРДС містять суперечливі дані. Одні дослідники стверджують про гальмування апоптозу нейтрофілів у БАЗ при ГУЛ, проте не встановлено чіткого зв'язку між даним захворюванням та апоптозом. Parsey і співавтори [525] у своїх дослідженнях показали, що при експериментальних моделях ГУЛ (крововтрата та ендотоксемія) у перші години ураження спостерігається активація програмованої загибелі клітин.

Якщо розглядати апоптоз з точки зору однієї з альтернатив клітинному поділу, що забезпечує гомеостаз у легеневій тканині, то можна припустити, що апоптоз бере участь у патогенезі ГУЛ. При цьому апоптоз повинен працювати практично на всіх рівнях процесу: елімінації пошкоджених альвеолоцитів та ендотеліоцитів, видалення НГ, що мігрували в зону ураження та ін. Наші дослідження підтверджують участь апоптозу у патогенезі ГУЛ, індукованого хлоридною кислотою. Відомо, що при ГУЛ НГ мігрують у вогнище ураження для відновлення клітинного гомеостазу [539], де стають заручниками своєї ж здатності генерувати АФК, надмірно секретувати біологічно активні речовини, зумовлюючи оксидативний стрес. Виснаження ензиматичних і неензиматичних шляхів АОЗ від АФК та їх накопичення зумовлюють незворотне пошкодження макромолекул, зниження $\Delta\psi$, вихід у цитозоль цитохрому С, Ca^{2+} та проапоптичних факторів, які зумовлюють швидку елімінацію функціонально неповноцінних клітин шляхом їх загибелі [537]. Викликає інтерес також відмінність апоптичних змін у динаміці ГУЛ у крові та БАЗ, що, напевне, пов'язано із шляхом реалізації програмованої чи індукованої загибелі клітин. Встановлено, що зміни кількості анексин-позитивних нейтрофілів у гомогенаті легень та БАЗ відбуваються односпрямовано у бік зростання відсотку раннього апоптозу. Це свідчить про те, що при ГУЛ рівень раннього апоптозу в БАЗ достовірно відображає зміни даного показника у гомогенаті легень. Потрібно відмітити, що найбільш

значуще зростання рівня раннього апоптозу зафіксовано у першу фазу ГУЛ через 2 год експерименту у крові, гомогенаті легень та БАЗ. В наступних дослідних групах кількість анексин-позитивних нейтрофілів у крові, на відміну від гомогенату легень та БАЗ, поверталася до норми протягом перших 24 год хлоридного ураження.

Проведений порівняльний аналіз рівнів пізнього апоптозу чи некрозу НГ у щурів при ГУЛ також показав однакову спрямованість структурних змін гранулоцитів у гомогенаті легень і БАЗ, що було відмінним від показників у крові в усіх групах спостереження ($p < 0,001$). Потрібно відмітити, що при ГУЛ рівень пізнього апоптозу чи некрозу в БАЗ відображає зміни даного показника у гомогенаті легень. Відповідно БАЗ може бути використаний для оцінки рівня програмованої чи індукованої загибелі клітин у легенях.

Увагу клініцистів привертає вивчення вільнорадикального окиснення ліпідів мембран як регулятора фізіологічних процесів. Надмірна активація процесів ПОЛ веде до порушення структури мембран, ліпідного обміну, здійснює токсичний вплив на тканини, сприяє посиленню лізису, окисненню сульфгідрильних груп білків і призводить до розвитку структурних змін при захворюваннях легень й інших органів та систем організму [427]. Регуляція нормальної концентрації пероксиду ліпідів у біологічних мембранах здійснюється внаслідок збалансованої взаємодії реакцій утворення цих продуктів – реакцій оксидації, та механізмів контролю, які ведуть до пригнічення їх утворення, – реакцій антиоксидації.

Аналіз кореляцій показав, що ступінь раннього апоптозу нейтрофілів у легенях збільшується із зростанням у крові вмісту продуктів ПОЛ й активності ферментної та неферментної ланок АОЗ. У легенях нейтрофіли найшвидше реагують на зміну оксидативно-антиоксидного гомеостазу, зумовлюючи накопичення активованих НГ у капілярній сітці альвеол та поглиблюючи оксидативний стрес, що відповідає сучасному баченню основних механізмів стимуляції апоптозу при патології [541]. За нормальних

фізіологічних умов деструктивна дія продуктів ПОЛ стримується багаторівневою системою антиоксидного захисту, що показано у нашому дослідженні.

Потрібно зауважити, що рівень раннього апоптозу нейтрофілів легень і крові позитивно корелював із вмістом у крові вільних SH-груп та церулоплазміну. Відомо, що SH-групи білкових молекул, в основному відновленого глутатіону, одними з перших беруть участь у нейтралізації вільних радикалів та токсинів [541]. Цей процес, відбувається безперервно, що супроводжується посиленням утворенням відновленого глутатіону, який, очевидно, у фізіологічних умовах змінюється відповідно до накопичення вільних радикалів, а тому позитивно корелює із ступенем раннього апоптозу.

Дослідження останніх років виявили зв'язок між процесами вільнорадикального окиснення й апоптозом. Аналіз результатів їх вивчення свідчить про існування функціональної системи регуляції клітинного гомеостазу. Поки немає переконаності в існуванні її центральної ланки в гіпоталамусі, але встановлено вплив цитокінів на її ланки. Дані декількох дослідників свідчать про те, що робочими ланками системи є рецептори і гени, від яких залежить синтез і дія ферментних білків – регуляторів рівня апоптозу, вільні радикали, про- та антиоксидна система та інші [542]. Проведений кореляційний аналіз показав прямий середньої сили зв'язок між ТБК-активними продуктами ПОЛ та рівнем раннього апоптозу через 6 год і далі впродовж доби у гомогенаті легень при ГУЛ. Така ж сама залежність відмічена між концентрацією ТБК-активних продуктів та рівнем пізнього апоптозу чи некрозу.

Отримані результати засвідчують, що активація процесів ПОЛ зумовлює апоптичні зміни клітин власне у зоні ураження – легенях, що тісно пов'язано з окиснювальною альтерацією біологічних сполук під дією АФК. Токсична дія продуктів ПОЛ нівелюється функціонуванням антиоксидного захисту, який представлений ферментними та неферментними

компонентами. Встановлено, що антиоксиданти можуть попереджувати або знижувати апоптичні зміни клітини [543].

При ГУЛ активуються реакції вільнорадикального окиснення, що веде до накопичення у тканинах і біологічних рідинах, зокрема БАЗ, АФК, у результаті чого ініціюються процеси ПОЛ. Система АОЗ захищає організм від токсичної дії продуктів ПОЛ впродовж перших 6 годин після ураження, проте не захищає організм від запуску програмованої клітинної смерті, хоча дещо зменшує її прояви. Гіпотеза щодо впливу продуктів ПОЛ та пригнічення АОЗ підтверджується існуванням прямої залежності апоптозу і ТБК-активних продуктів та оберненої залежності між апоптозом і ферментними компонентами АОЗ через 12 год ГУЛ.

При проведенні дослідження виявлено, що в міру зниження активності ферментної ланки АОЗ зростає кількість анексин-позитивних нейтрофілів у гомогенаті легень через 12 год спостереження. Досліджено, що при активації пероксидних процесів відбувається стимуляція окиснювальної модифікації мембранних фосфоліпідів та білків, на що вказує прямий взаємозв'язок між ОМБ нейтрального характеру і кількістю НГ з ознаками раннього апоптозу, яка призводить до зміни фізико-хімічних властивостей клітин [391].

Сигнальними молекулами апоптозу є ФНП- α та його розчинні рецептори. Даний цитокін має багатоманітні впливи на різні типи клітин, варіюючи від здатності викликати апоптоз одних клітин до спроможності збільшувати тривалість життя інших [143, 144]. Andrew Cross і співавтори показали, що протягом 2 год лікування ФНП- α 100 % клітин стають апоптичними [544]. Це дозволяє нам припускати, що різна концентрація даного цитокіну в крові, БАЗ і гомогенаті легень обумовлює відмінність реалізації апоптозу клітин.

Проведені попередні дослідження ФНП- α при ГУЛ та ГРДС містять суперечливі дані. Одні дослідники стверджують про достовірне підвищення даного цитокіну у крові та БАЗ [545, 546], а інші, навпаки, про низькі цифри ФНП- α у даних біологічних рідинах [547].

Специфічні і неспецифічні цитокинові антагоністи були описані після відкриття цитокинів і забезпечували механізми зниження біологічних ефектів прозапальних цитокинів. Антагоністами ФНП- α є розчинні форми sTNF-R1 і sTNF-R2, які утворюються шляхом відокремлення екстрацелюлярної частини активного рецептора від клітинної мембрани [548, 549].

Багатьма науковцями доведено важливу роль цитокинів у секвестрації нейтрофілів у тканини [548-550], проте важливим є також визначення рівня ФНП у крові та БАЗ, і їх порівняння для обґрунтування механізмів регуляції легеневого ураження.

Всі популяції лейкоцитів, які приймають участь у запальному процесі, у тому числі і нейтрофіли, виділяють цитокини, основною мішенню яких є ендотелій судин. Біологічний ефект ФНП- α визначається його концентрацією. Системні ефекти ФНП- α проявляються у тому випадку, коли доза подразника настільки велика, що активує нейтрофіли, які, у свою чергу, зумовлюють викид у кров'яне русло цитокинів. Таким чином, гіперпродукція ФНП- α є одним з чинників дисбалансу імунної рівноваги [551]. На нашу думку, у перші 2 год ФНП- α зростає у крові як реактивна відповідь на дію хлоридної кислоти, проте ці зміни не відображають механізми ушкодження легень при ГУЛ. Потрібно також зауважити, що у першу добу експериментального ГУЛ концентрація ФНП- α у БАЗ була високою, що, ймовірно, обумовлене активацією НГ та запуском метаболічних каскадних реакцій. Отримані результати свідчать про те, що гіперпродукція ФНП- α може відігравати важливу роль в ініціації ГУЛ. Для глибшого дослідження системи ФНП- α було проведено визначення кількості НГ крові та БАЗ, що несуть ФНП-R1. В даний час ФНП-R1 у механізмах регуляції клітинного гомеостазу є універсальним, оскільки послідовність цитотоксичних реакцій, що індуковані певними патогенетичними чинниками, є наслідком власне активації ФНП-R1 [552].

Встановлені дані вказують на відмінність процесів на системному та місцевому рівнях. Так, у БАЗ великий відсоток ФНП-R1 пов'язаний, напевно,

з необхідністю нейтралізувати цитотоксичну активність ФНП- α шляхом зв'язування ФНП-R1 із даним цитокином. Підвищення вмісту ФНП-R1 у крові щурів у першу фазу ГУЛ може бути розцінено як адаптивна відповідь на підвищення активності ФНП- α . У подальшому відсоток клітин, які несуть мембранозв'язуючий рецептор ФНП- α типу 1 залишався практично незмінним при концентрації ФНП- α наближеній до норми, що свідчить про підвищену готовність клітин до реалізації основних патологічних ефектів даного цитокину, зокрема ФНП- α -опосередкованої рецепторної програмованої смерті клітин, що підтверджується результатами інших досліджень [553].

Наступний етап нашої роботи був присвячений вивченню особливостей реалізації апоптозу в лабораторних тварин при ГУЛ за динамікою змін АФК, трансмембранного потенціалу мітохондрій, раннього та пізнього апоптозу чи некрозу, TNF-R1 нейтрофілів та активності каспази-3.

Провідну роль у прогресуванні захворювання відіграють зміни мітохондріальних процесів, що ведуть до підвищення кількості АФК. Основним шляхом активації молекулярного кисню у клітині є відновлення його в активних центрах ферментів – оксидаз та оксигеназ. Висока реакційна здатність робить їх високотоксичними для біологічних систем на всіх рівнях існування. Основними джерелами утворення супероксидного аніон-радикалу, пероксиду водню та гідроксильного радикала є ферментні системи: НАДФН – оксидаза, ксантинооксидаза, мітохондріальна цитохромоксидаза і мікросомальні монооксигенази (система цитохрому P-450) [419]. У результаті виникає, так званий, кисневий спалах, який обумовлений АФК, серед яких мієлопероксидаза каталізує реакцію утворення гіпохлориту з аніону хлору і пероксиду водню, а також відбувається утворення гідроксильного радикалу з пероксиду водню і гіпохлориту у присутності іонів заліза. Дисмутація супероксид аніон-радикалів під дією СОД у біологічних тканинах зумовлює утворення

пероксиду водню, який здатний легко проникати через мембрани клітин [554].

Наше дослідження показало, що при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, у міру збільшення рівня АФК у нейтрофілах зростає і кількість НГ з ознаками раннього апоптозу у БАЗ, що свідчить про залежність цих двох процесів у легенях. Зростання кількості апоптично змінених нейтрофілів виявлено також і при хронічних обструктивних захворюваннях легень [444].

Пошкодження мітохондріальних мембран відбувається внаслідок утворення величезних пор у зовнішній оболонці, які утворюються завдяки дії певних індукторів апоптозу, зокрема, АФК, або при гіперполяризації цих мембран [440]. Внаслідок цього у цитозоль виходять проапоптичні білки, до яких відноситься цитохром С, АІF, Араf, ендонуклеаза G та інші, й іони кальцію, що зумовлює різке зростання АФК у мітохондріях нейтрофілів та активацію каспазного каскаду [441]. Наше дослідження показало, що при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, у міру збільшення відсотку нейтрофілів зі зниженим $\Delta\psi$ зростає і кількість анексин-позитивних нейтрофілів у БАЗ, що свідчить про достовірну залежність цих двох процесів у легенях, що підтверджується при інших моделях ГУЛ [545].

Валивим результатом нашого дослідження є встановлення різних змін при ГУЛ у крові і БАЗ, що обумовлено, мабуть, існуванням різних механізмів при даному захворюванні. Однією з причин такої різниці може бути характерна для ГУЛ міграція НГ у дихальні шляхи та активація місцевих факторів захисту, до яких відноситься й апоптоз, основна мета якого зменшити кількість клітин імунної системи, що приймають участь у запальному процесі. Згодом даний механізм стає провідним і через 24 год (5-а дослідна група) набуває прямого кореляційного зв'язку між досліджуваними маркерами апоптозу в крові. На нашу думку, проведене дослідження дозволяє стверджувати про те, що при ГУЛ, модельованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, у першу добу експерименту

більшу діагностичну цінність має БАЗ, аніж кров. По-друге, нами встановлений істотний вплив мітохондріально-опосередкованого шляху апоптозу в патогенезі ГУЛ, що схематично може бути зображений наступним чином (рис. 7.2).

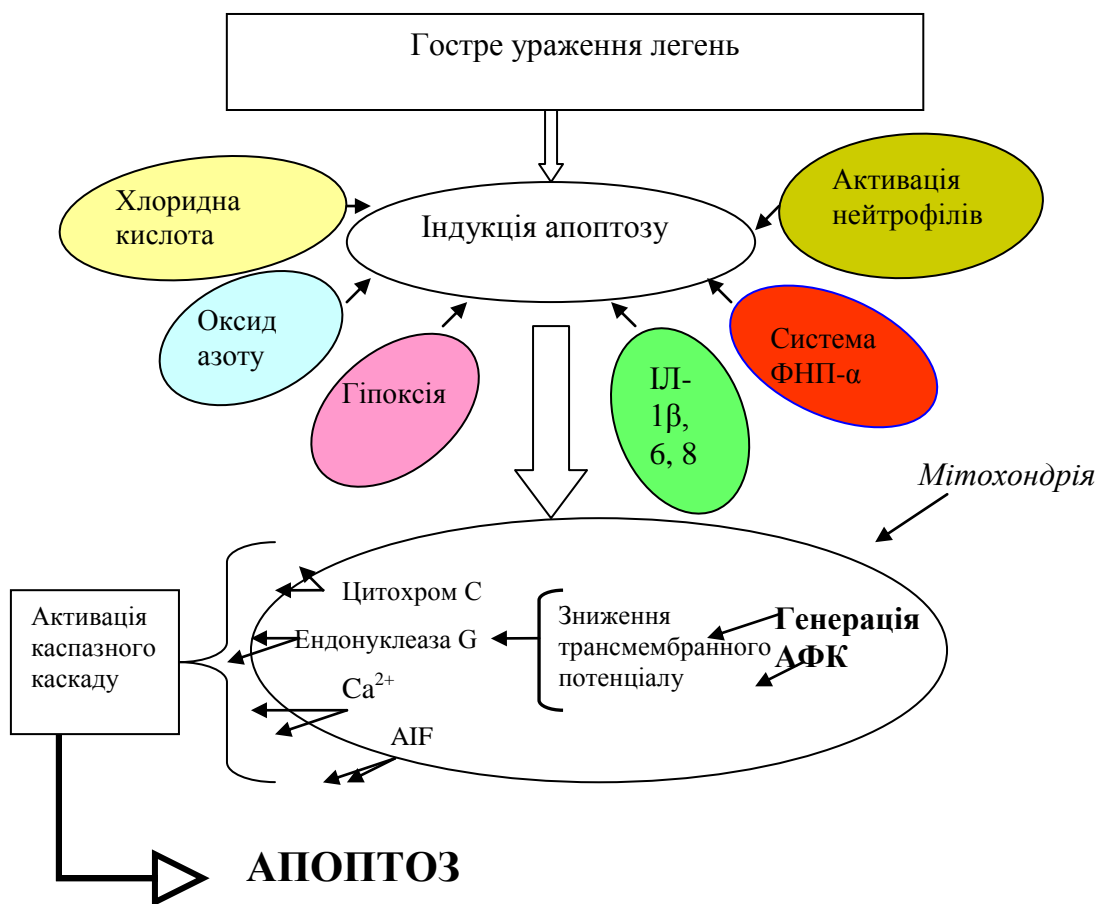


Рис. 7.2. Механізм мітохондріального шляху клітинної загибелі за умов гострого ураження легень.

Оскільки каспазу-3, яка розщеплює важливі для підтримання клітинного гомеостазу протеїни, вважають основною ефекторною молекулою у «виконавчій» стадії у багатьох моделях апоптозу, було логічно з'ясувати її активність під час індукованого хлоридною кислотою ГУЛ. Проведене нами дослідження активності каспази-3 показало, що при ГУЛ у крові експериментальних тварин активність даної протеїнази практично не змінювалася, порівняно з даними контролю та дослідних груп ($p > 0,05$).

Значне зростання активності каспази-3 може бути зумовлене втягненням мітохондріального шляху апоптозу, який пов'язаний з надходженням із середини клітини проапоптогенних сигналів, до яких відносяться АФК, які інтенсифікують процеси вільнорадикального пероксидного окиснення. Генерація кисневих радикалів стимулює апоптоз шляхом зниження потенціалу мембрани мітохондрій, що свідчить про відкриття пор та деполяризацію мембрани мітохондрій [555]. Потрібно зауважити, що утворенню пор сприяє каспаза-8, яка активується при взаємодії ФНП- α з мембранозв'язуючими рецепторами цього інтерлейкіну. У результаті розвивається набряк мітохондріального матриксу, розрив зовнішньої мітохондріальної мембрани і вихід цитохрому С, АІФ (apoptosis inducing factor), що активує каспазу-3, вторинного активатора каспаз мітохондріального походження, а також інших проапоптозних білків із міжмембранного простору у цитозоль (рис. 7.3).



Рис. 7.3. Рецептор-опосередкований та мітохондріальний шляхи загибелі клітин при гострому ураженні легень.

Активність каспази-3 регулюється як зовнішніми, так і внутрішніми ФНП-рецептор-опосередкованими механізмами апоптозу. В даний час встановлено, що більшість цитотоксичних ефектів ФНП- α опосередковані ФНП-R1 через його взаємодію з TRADD (зв'язаний з ФНП-R1 домен смерті) [557]. Це підтверджується і нашими дослідженнями, які вказують на зростання активності каспази-3 у міру збільшення відсотку нейтрофілів, що несуть TNF-R1 при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням HCl.

Розвиток метаболічних порушень системного та локального гемостазу, а також апоптичні зміни легеневої тканини було підтверджено на морфологічному рівні. Встановлено, що у щурів, яким інтратрахеально вводили хлоридну кислоту, вже через 2 год експерименту спостерігалися специфічні для ГУЛ ознаки: міжальвеолярні перетинки характеризувалися повнокрів'ям, набряклістю, інфільтрацією лімфогістіоцитами, еритроцитами та палочкоядерними нейтрофільними гранулоцитами крові; вогнищево зустрічалися сегментоядерні лейкоцити; ділянки емфізематозно зміненої легеневої тканини; дрібні бронхи вогнищево були з вираженими дистрофічними змінами поверхневого епітелію, в просвіті деяких визначалися секрет або злуцений епітелій; виявлялось вогнищеве розширення альвеол, в легеневій тканині відмічалися розлади мікроциркуляції; у судинах легеневого мікроциркуляторного русла виявлялося повнокрів'я, формувались складжі.

Причиною мінімізації об'ємної частки пневматизованого простору стали структурні зміни легеневої паренхіми, насамперед формування масивних ателектазів у результаті порушення прохідності бронхіального дерева. Мікроскопічно при цьому виявлялася підсилена складчастість слизової оболонки бронхіол, зірчаста форма просвіту бронхів та їх обтурація закривалися секретом і десквамованими епітеліальними клітинами. Такі патоморфологічні зміни лежать в основі трансформацій наступного морфометричного показника – відносної товщини стінки дрібних бронхів – співвідношення поперечного розміру бронхіальної стінки

до зовнішнього діаметру бронха., яке на початкових етапах збільшувалося внаслідок гіпертрофії клітин поверхневого епітелію з підвищеною секреторною активністю слизової оболонки, набряку та запальної інфільтрації (з переважанням макрофагів та лімфоїдних клітин), а через 12 год досліджу зменшувалося, що можна пояснити дистрофічно-некротичними змінами бронхіального епітелію з наступною його десквамацією.

Через 6 і 12 год відмічався спазм і малокров'я артерій як дрібного, так і середнього калібру, що, ймовірно, поглиблювало дистрофічні та некротичні зміни паренхіматозних структур легень внаслідок ішемії, котра була важливим патогенетичним елементом ГУЛ [558].

Отримані результати морфологічного дослідження легеневої тканини щурів підтверджують попередні наші результати, які вказують на участь НГ у пусковому механізмі розвитку даного патологічного процесу та розвиток набряку легень через 2 год після інтратрахеального введення тваринам НСІ, що погіршувало газообмін у легенях [559]. При мікроскопічному дослідженні структури легеневої тканини у наступні часові проміжки виявлені ознаки ГУЛ, які у відповідь на аспірацію проявлялись потовщенням міжальвеолярних перетинок за рахунок набряку та лімфогістіоцитарної інфільтрації, пошкодженням слизової оболонки бронхів і бронхіол, розвитком інтерстиційного та альвеолярного набряку легень, розвитком ателектазів, дистелектазів і емфіземи.

Це знайшло своє відображення у зміні відповідного морфометричного показника – ШМП, який збільшився на 9,7 %. З плином часу набряк наростає, інтенсивність лімфогістіоцитарної інфільтрації збільшувалася, набуваючи дифузного характеру. Механізм розвитку набряку легень при експериментальному НСІ-індукованому ГУЛ пов'язаний із викидом прозапальних цитокінів у відповідь на пошкодження бронхіального епітелію, зокрема ІЛ-1, ІЛ-6 та ІЛ-8, що зумовлює регіонарну секвестрацію нейтрофільних гранулоцитів у легенях, підвищення проникності судин мікроциркуляторного русла внаслідок ендотеліального пошкодження [560].

Поява ателектазів і дистелектазів зумовлена пошкодженням альвеолоцитів II типу, які відповідають за синтез і секрецію сурфактанту [561]. Все це, у свою чергу, сприяє прогресуванню структурних змін легень і наростанню гіпоксії в міру прогресування ГУЛ.

Встановлені гістологічні зміни у респіраторному відділі легень щурів з НСІ-індукованим ГУЛ вказують на пряму залежність структурних змін легень від тривалості захворювання, що проявляється наростанням набряку легень, потовщенням міжальвеолярних перетинок та прогресуванням гіпоксії у 1 добу захворювання.

При аналізі результатів електронної мікроскопії до компенсаторно-приспосувальних процесів у перші 2 години експерименту можна віднести повнокров'я капілярів без розвитку агрегації еритроцитів, розширення альвеол без ознак здавлення капілярів у міжальвеолярних перетинках, притік нейтрофілів і макрофагів як фактору клітинного захисту, що попереджає генералізацію ураження. Проте, вже в першій стадії ГУЛ пригнічується вироблення сурфактанту внаслідок дистрофічних і деструктивних змін альвеолоцитів 2 типу, а також можливого ушкодження інтраальвеолярного пула сурфактанту легень хлоридною кислотою, який проникає через структури АГБ, що зумовлює розвиток гіпоксії.

Ультрамікроскопічні зміни через 6 год експериментального ГУЛ свідчать також про подальше посилення порушень мікроциркуляції та розвиток дистрофічних, а також деструктивних і некротичних змін у клітинах, та прогресування гіпоксії. Кількість альвеолярних макрофагів у просвіті альвеол невелика й в основному представлена активними в функціональному відношенні формами, що свідчить про активацію системи місцевого захисту легень [562].

Встановлено, що в умовах гіпоксії відстань між ендотеліоцитами збільшується, що призводить до розвитку інтерстиційного та альвеолярного набряку, що може бути обумовлено викидом катехоламінів та глюкокортикоїдів у відповідь на стрес, індукований екзогенними чи

ендогенними факторами, зокрема введенням хлоридної кислоти, що підтверджується іншими дослідженнями [563].

Через 12 і 24 год спостереження в усіх апоптотично і пренекротично ущільнених альвеолоцитах II типу визначався каріопікноз із глибокою конденсацією і маргінацією хроматину, набрякання мітохондрій зі значною редукцією крист, розширенням вакуолей комплексу Гольджі і цистерн гранулярної ЕПС без прикріплених рибосом. Цитоплазма таких альвеолоцитів 2 типу відрізнялась підвищеною осміофілією нуклеопротейнів і дезінтегрованих рибосом. Ущільнені і зменшені альвеолоцити були оточені розширеними відростками макрофагів, які зберігали здатність до фагоцитозу. Такі структурні зміни могли бути однією з фаз апоптозу альвеолоцита 2 типу напередодні його дезінтеграції каспазами, а могли бути також проявами розвитку некрозу легеневої тканини.

Результати проведених досліджень дозволяють вважати, що механізм пошкодження легень при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням хлоридної кислоти, обумовлений гетерогенними порушеннями перфузії та альвеолярної вентиляції, які наростають в міру прогресування захворювання. Морфологічні зміни у респіраторному відділі легень при ГУЛ реалізуються в комплексі дистрофічних і деструктивних реакцій у структурах аерогематичного бар'єру, при цьому основними морфогенетичними типами селективної загибелі клітин легень є апоптоз та некроз.

У відповідь на моделювання гострого респіраторного ураження легень виникають компенсаторні відхилення показників центральної гемодинаміки, які насамперед пов'язані із збільшенням інотропних впливів на серце, що призводить до зростання хвилинного кровотоку та пульсового кровонаповнення. Наростання дихальної недостатності на 24 год після ураження легень залучає додатковий компенсаторний механізм стабільного пульсового кровонаповнення центральної частини тіла за рахунок збільшення тону артеріальних судин.

Якщо підійти до одержаного результату з позицій механізмів розвитку, то можна констатувати, що у патогенезі ГУЛ важливе місце займає активація зумовленого гіпоксією системного ПОЛ, деструкція мембран органел та клітинних мембран, стимуляція системної запальної реакції організму, реалізація рецептор–опосередкованого та мітохондріального шляхів апоптозу.

Отримані нами експериментальні дані розширюють існуючі уявлення про патогенез даного синдрому і є теоретичним підґрунтям для подальшого клінічного дослідження.

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 $p\text{CO}_2$ на 21,7 % ($p < 0,001$), зниженням рівня рН на 2,0 % ($p < 0,01$), насичення крові киснем ($p\text{O}_2$ та $p\text{O}_2/\text{FiO}_2$ на 125,3 %, $p < 0,001$) та ефективності оксигенації (приріст AaDO_2 в 7,5 рази, $p < 0,001$), що обумовлено наростанням набряку легень (збільшення W/D ratio у 2,2 рази, $p < 0,001$). Через 12 годин експерименту зростання рН артеріальної крові, незначне зниження $p\text{CO}_2$ та підвищення $p\text{O}_2$ 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-дінитрофенілгідразонами у крові ($r=0,43$; ($p<0,05$) та гомогенаті легень ($r=0,51$; $p<0,05$) через 2 год експерименту. В умовах наростання оксидаційного стресу відбувається підвищення вмісту альдегідо- і кетоніохідних 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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Blank R. Epidemiology of ARDS and ALI / R. Blank, L. M. Napolitano // *Crit. Care Clin.* – 2011. – Vol. 27, № 3. – P. 439-458.
2. Regulation of vascular endothelial growth factor bioactivity in patients with acute lung injury / G. D. Perkins, J. Roberts, D. F. McAuley [et al.] // *Thorax.* – 2005. – Vol. 60 (2). – P. 153-158.
3. Matthay M. A. The acute respiratory distress syndrome: pathogenesis and treatment / M. A. Matthay, R. L. Zemans // *Annu. Rev. Pathol.* – 2011. – Vol. 6. – P. 147-163.
4. Incidence and outcomes of acute lung injury / G. D. Rubenfeld, E. Caldwell, E. Peabody [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353, № 16. – P. 1685-1693.
5. Racial and ethnic disparities in mortality from acute lung injury / S. E. Erickson, M. G. Shlipak, G. S. Martin [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 37, № 1. – P. 1-6.
6. The influence of race on the development of acute lung injury in trauma patients / L. M. Brown, R. H. Kallet, M. A. Matthay, R. A. Dicker // *Am. J. Surg.* – 2011. – Vol. 201, № 4. – P. 486-491.
7. Johnson E. R. Acute lung injury: epidemiology, pathogenesis, and treatment / E/ R. Johnson, M. A. Matthay // *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug Deliv.* – 2010. – Vol. 23 (4). – P. 243-252.
8. Epidemiology and outcome of acute lung injury in European intensive care units. Results from the ALIVE study / C. Brun-Buisson, C. Minelli, G. Bertolini [et al.] // *Intensive Care Med.* – 2004. – Vol. 30, № 1. – P. 51-61.
9. Incidence of acute lung injury in the United States / C. H. Goss, R. G. Brower, L. D. Hudson [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 31, № 16. – P. 1607-1611.
10. Vincent J. L. Why do patients who have acute lung injury/acute respiratory distress syndrome die from multiple organ dysfunction syndrome?

Implications for management / J. L. Vincent, M. Zambon // *Clin. Chest Med.* – 2006. – Vol. 27, № 4. – P. 725-731.

11. Волосовець О. П. Сучасні погляди на проблему синдрому аспірації меконію у новонароджених / О. П. Волосовець, С. П. Кривопустов, Н. С. Пищюра // *Львівський мед. часопис.* – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 89-93.

12. Anderson M. R. Update on pediatric acute respiratory distress syndrome / M. R. Anderson // *Respir. Care.* – 2003. – Vol. 48, № 3. – P. 261-276.

13. Neutrophils as early immunologic effectors in hemorrhage- or endotoxemia-induced acute lung injury / E. Abraham, A. Carmody, R. Shenkar, J. Arcaroli // *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* – 2000. – Vol. 279, № 6. – P. 1137-1145.

14. Acute lung injury and ARDS in acute pancreatitis: Mechanisms and potential intervention / M. T. Zhou, C. S. Chen, B. C. Chen [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 16, № 17. – P. 2094-2099.

15. Rocco P. R. Lung parenchyma remodeling in acute respiratory distress syndrome / P. R. Rocco, C. Dos Santos, P. Pelosi // *Minerva Anesthesiol.* – 2009. – Vol. 75, № 12. – P. 730-740.

16. Wheeler A. P. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: a clinical review / A. P. Wheeler, G. R. Bernard // *Lancet.* – 2007. – Vol. 369, № 9572. – P. 1553-1564.

17. Diagnosis of acute respiratory distress syndrome in nosocomial pneumonia / A. N. Kuzovlev, V. V. Moroz, A. M. Goloubev, S. G. Polovnikov // *Semin. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* – 2010. – Vol. 14, № 4. – P. 231-241.

18. Osterlund P. Pandemic H1N1 2009 influenza A virus induces weak cytokine responses in human macrophages and dendritic cells and is highly sensitive to the antiviral actions of interferons / P. Osterlund, J. Pirhonen, N. Ikonen [et al.] // *J. Virol.* – 2010. – Vol. 84, № 3. – P. 1414-1422.

19. Soluble endothelial selectin in acute lung injury complicated by severe pneumonia / D. Osaka, Y. Shibata, K. Kanouchi [et al.] // *Int. J. Med. Sci.* – 2011. – Vol. 8, № 4. – P. 302-308.

20. Khadawardi H. A. Acute respiratory distress syndrome with miliary tuberculosis / H. A. Khadawardi, A. G. Gari // *Saudi Med. J.* – 2012. – Vol. 33, № 1. – P. 83-86.
21. Yang K. Y. Early alterations in neutrophil activation are associated with outcome in acute lung injury / K. Y. Yang, J. J. Arcaroli, E. Abraham // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 167, № 11. – P. 1567-1574.
22. Sivelestat sodium hydrate improves septic acute lung injury by reducing alveolar dysfunction / S. Endo, N. Sato, Y. Yaegashi [et al.] // *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 119, № 1–6. – P. 53-65.
23. Pathogenesis of indirect (secondary) acute lung injury / M. Perl, J. Lomas-Neira, F. Venet [et al.] // *Expert. Rev. Respir. Med.* – 2011. – Vol. 5, № 1. – P. 115-126.
24. Kuwano K. Epithelial cell apoptosis and lung remodeling / K. Kuwano // *Cell Mol Immunol.* – 2007. – Vol. 4, № 6. – P. 419-429.
25. Martin T. R. The role of apoptosis in acute lung injury / T. R. Martin, M. Nakamura, G. Matute-Bello // *Crit. Care.* – 2003. – Vol. 7, № 5. – P. 355-358.
26. Neutrophil apoptosis in the lung after hemorrhage or endotoxemia: apoptosis and migration are independent of IL-1beta / M. V. Parsey, D. Kaneko, R. Shenkar, E. Abraham // *Clin. Immunol.* – 1999. – Vol. 91, № 2. – P. 219-225.
27. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination / G. R. Bernard, A. Artigas, K. L. Brigham [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1994. – Vol. 149, № 3, Pt. 1. – P. 818-824.
28. Наказ № 430 від 03.07.2006 “Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю “Анестезіологія та інтенсивна терапія” / Міністерство охорони здоров’я України. – 2006.
29. Matthay M. A. The acute respiratory distress syndrome / M. A. Matthay, L. B. Ware, G. A. Zimmerman // *J. Clin. Invest.* – 2012. – Vol. 122, № 8. – P. 2731-2740.

30. Triulzi D. J. Transfusion-Related Acute Lung Injury: Current Concepts for the Clinician / D. J. Triulzi // *Anesthesia and Analgesia*. – 2009. – Vol. 108, № 3. – P. 770-776.
31. Acute respiratory distress in adults / D. G. Ashbaugh, D. B. Bigelow, T. L. Petty, B. E. Levine // *Lancet*. – 1967. – Vol. 2, № 7511. – P. 319-323.
32. Weibrecht K. W. Acute respiratory distress associated with inhaled hydrocarbon / K. W. Weibrecht, S. H. Rhyee // *Am. J. Ind. Med.* – 2011. – Vol. 54, № 12. – P. 911-914.
33. Ikpeama L. C. Diffuse alveolar hemorrhage-induced respiratory failure / L. C. Ikpeama, B. K. Bailes // *Crit. Care Nurs. Q.* – 2012. – Vol. 35, № 2. – P. 124-133.
34. Acute respiratory distress syndrome and acute lung injury / A. Dushianthan, M. P. Grocott, A. D. Postle, R. Cusack // *Postgrad. Med. J.* – 2011. – Vol. 87, № 1031. – P. 612-622.
35. Incidence and Outcomes of Acute Lung Injury / G. D. Rubenfeld, E. Caldwell, E. Peabody [et al.] // *New Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353, № 5. – P. 1685-1693.
36. Use of two oxygenators during extracorporeal membrane oxygenator for a patient with acute respiratory distress syndrome, high-pressure ventilation, hypercapnia, and traumatic brain injury / G. Leloup, H. Rozé, J. Calderon, A. Ouattara // *Br. J. Anaesth.* – 2011. – Vol. 107, № 6. – P. 1014-1015.
37. Acute pulmonary injury induced by experimental muscle trauma / M. A. Sombra, M. P. Vasconcelos, S. B. Guimaraes [et al.] // *Acta Cir. Bras.* – 2011. – Vol. 26, Suppl. 1. – P. 43-46.
38. Chemically modified tetracycline 3 prevents acute respiratory distress syndrome in a porcine model of sepsis + ischemia/reperfusion-induced lung injury / S. K. Roy, B. D. Kubiak, S. P. Albert [et al.] // *Shock*. – 2012. – Vol. 37, № 4. – P. 424-432.
39. Chen H. I. From neurogenic pulmonary edema to fat embolism syndrome: a brief review of experimental and clinical investigations of acute lung

injury and acute respiratory distress syndrome / H. I. Chen // *Chin. J. Physiol.* – 2009. – Vol. 52, Suppl. 5. – P. 339-344.

40. Acute lung injury and ARDS in acute pancreatitis: Mechanisms and potential intervention / M. T. Zhou, C. S. Chen, B. C. Chen [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 16, № 17. – P. 2094-2099.

41. Red blood cell transfusion and outcomes in patients with acute lung injury, sepsis and shock / E. C. Parsons, C. L. Hough, C. W. Seymour [et al.] // *Crit. Care.* – 2011. – Vol. 15, № 5. – P. R221.

42. Chen H. I. Pathophysiological mechanisms of acute lung injury in patients with leptospirosis / H. I. Chen, S. J. Kao, Y. H. Hsu // *Pathology.* – 2007. – Vol. 39, № 3. – P. 339-344.

43. Valsalva manoeuvre effect on distribution of lung damage in heroin inhalation / S. J. Prowse, T. Lima, K. L. Irion [et al.] // *Br. J. Radiol.* – 2011. – Vol. 84, № 1006. – P. 200-201.

44. Triulzi D. J. Transfusion-Related Acute Lung Injury: Current Concepts for the Clinician / D. J. Triulzi // *Anesthesia and Analgesia.* – 2009. – Vol. 108, № 3. – P. 770-776.

45. Dexmedetomidine attenuates remote lung injury induced by renal ischemia-reperfusion in mice / J. Gu, J. Chen, P. Xia [et al.] // *Acta Anaesthesiol. Scand.* – 2011. – Vol. 55, № 10. – P. 1272-1278.

46. High mortality from respiratory failure secondary to swine-origin influenza A (H1N1) in South Africa / C. F. Koegelenberg, E. M. Irusen, R. Cooper [et al.] // *QJM.* – 2010. – Vol. 103, № 5. – P. 319-325.

47. Radhakrishnan V. Transfusion related acute lung injury in a child with leukemia / V. Radhakrishnan, P. Coshic, S. Bakhshi // *Indian Pediatr.* – 2012. – Vol. 49, № 2. – P. 154-155.

48. Respiratory complications of accidental drownings in children / J. Forler, A. Carsin, K. Arlaud [et al.] // *Arch. Pediatr.* – 2010. – Vol. 17, № 1. – P. 14-18.

49. Zhang S. F. Acute high altitude reaction syndrome and systemic

inflammatory response syndrome / S. F. Zhang, X. H. Luo // *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao.* – 2007. – Vol. 29, № 4. – P. 551-556.

50. Kolobow T. Volutrauma, barotrauma, and ventilator-induced lung injury: lessons learned from the animal research laboratory / T. Kolobow // *Crit. Care Med.* – 2004. – Vol. 32, № 9. – P. 1961-1962.

51. Aminoguanidine ameliorates radiation-induced oxidative lung damage in rats / C. Eroglu, O. G. Yildiz, R. Saraymen [et al.] // *Clin. Invest. Med.* – 2008. – Vol. 31, № 4. – P. E182-E188.

52. Young N. H. High-frequency oscillation as a rescue strategy for brain-injured adult patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome / N. H. Young, P. J. Andrews // *Neurocrit. Care.* – 2011. – Vol. 15, № 3. – P. 623-633.

53. Chen S. Association of interleukin 18 gene polymorphism with susceptibility to the development of acute lung injury after cardiopulmonary bypass surgery / S. Chen, L. Xu, J. Tang // *Tissue Antigens.* – 2010. – Vol. 76, № 3. – P. 245-249.

54. Davenport A. Sudden onset of adult respiratory distress syndrome (ARDS) in a long standing chronic haemodialysis patient with lung calcification / A. Davenport // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2006. – Vol. 21, № 3. – P. 807-810.

55. Adult respiratory distress syndrome or congestive heart failure in severe burn: a role for brain natriuretic peptide / A. O. Lansink-Hartgring, J. Eshuis, M. K. Nieuwenhuis [et al.] // *Burns.* – 2010. – Vol. 36, № 6. – P. e87-e90.

56. Mucins carrying selectin ligands as predictive biomarkers of disseminated intravascular coagulation complication in ARDS / T. Nakashima, A. Yokoyama, J. Inata [et al.] // *Chest.* – 2011. – Vol. 139, № 2. – P. 296-304.

57. A pediatric case of transfusion-related acute lung injury following bone marrow infusion / Y. Yui, K. Umeda, H. Kaku [et al.] // *Pediatr. Transplant.* – 2007. – Vol. 11, № 5. – P. 543-546.

58. Total liquid ventilation reduces lung injury in piglets after cardiopulmonary bypass / L. Jiang, Q. Wang, Y. Liu [et al.] // *Ann. Thorac.*

Surg. – 2006. – Vol. 82, № 1. – P. 124-130.

59. Acute respiratory distress syndrome following inhalation of barium sulfate / Y. Gernez, F. Barlési, C. Doddoli [et al.] // *Rev. Mal. Respir.* – 2005. – Vol. 22, № 3. – P. 477-480.

60. To K. K. Delayed clearance of viral load and marked cytokine activation in severe cases of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection / K. K. To // *Clin. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 50, № 6. – P. 850-859.

61. Soubani A. M. O. Acute respiratory distress syndrome: a clinical update / A. M. O. Soubani, R. Pieroni // *South Med. J.* – 1999. – Vol. 92. – P. 450-457.

62. Андрейчин М. А. Проблема грипу А/Н1N1 / М. А. Андрейчин, В. С. Копча // *Інфекційні хвороби.* – 2009. – № 4. – С. 5-20.

63. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans / Investigation Team, F. S. Dawood, S. Jain [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 360, № 25. – P. 2605-2615.

64. Acute respiratory failure complicating advanced liver disease / M. Karcz, B. Bankey, D. Schwaiberger [et al.] // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* – 2012. – Vol. 33, № 1. – P. 96-110.

65. CESAR: conventional ventilatory support vs extracorporeal membrane oxygenation for severe adult respiratory failure / G. J. Peek, F. Clemens, D. Elbourne [et al.] // *BMC Health Serv. Res.* – 2006. – Vol. 6. – P. 163.

66. Pediatric acute lung injury: prospective evaluation of risk factors associated with mortality / H. R. Flori, D. V. Glidden, G. W. Rutherford, M. A. Matthay // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 171, № 9. – P. 995-1001.

67. Randolph A. G. Management of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome in children / A. G. Randolph // *Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 37, № 8. – P. 2448-2454.

68. The influence of race on the development of acute lung injury in trauma patients / L. M. Brown, R. H. Kallet, M. A. Matthay, R. A. Dicker // *Am. J. Surg.* – 2011. – Vol. 201, № 4. – P. 486-491.

69. Predictive and pathogenetic value of plasma biomarkers for acute kidney injury in patients with acute lung injury / K. D. Liu, D. V. Glidden, M. D. Eisner [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2007. – Vol. 35, № 12. – P. 2755-2761.

70. An expanded definition of the adult respiratory distress syndrome / J. F. Murray, M. A. Matthay, J. M. Luce, M. R. Flick // *Am. Rev. Respir. Dis.* – 1988. – Vol. 138, № 3. – P. 720-723.

71. Incidence and outcomes of acute lung injury / G. D. Rubenfeld, E. Caldwell, E. Peabody [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353, № 16. – P. 1685-1693.

72. Abraham E. Neutrophils and acute lung injury / E. Abraham // *Care Med.* – 2003. – Vol. 31, Suppl. 4. – P. 195-199.

73. Moloney E. D. Pathophysiology and pharmacological treatment of pulmonary hypertension in acute respiratory distress syndrome / E. D. Moloney, T. W. Evans // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 21, № 4. – P. 720-727.

74. Idell S. Coagulation fibrinolysis, and fibrin deposition in acute lung injury / S. Idell // *Care Med.* – 2003. – Vol. 31, Suppl. 4. – P. 213-220.

75. Clara cell protein (CC16), a marker of lung epithelial injury, is decreased in plasma and pulmonary edema fluid from patients with acute lung injury / J. A. Kropski, R. D. Fremont, C. S. Calfee, L. B. Ware // *Chest.* – 2009. – Vol. 135, № 6. – P. 1440-1447.

76. Greer R. The temporal evolution of acute respiratory distress syndrome following shock / R. Greer // *Eur. J. Anaesthesiol.* – 2010. – Vol. 27, № 3. – P. 226-232.

77. The functional significance behind expressing two IL-8 receptor types on PMN / R. Stillie, S. M. Farooq, J. R. Gordon, A. W. Stadnyk // *J. Leukoc. Biol.* – 2009. – Vol. 86. – P. 529-543.

78. Авдеев С. Н. Острый респираторный дистресс-синдром / С. Н. Авдеев // *Consilium Medicum.* – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 330-338.

79. Cell pathways involving CTLA4 contribute to a model of acute lung injury / T. Nakajima, C. J. Suarez, K. W. Lin [et al.] // *J. Immunol.* – 2010. –

Vol. 184, № 10. – P. 5835-5841.

80. Andrejaitiene J. Acute respiratory distress syndrome / J. Andrejaitiene // *Medicina (Kaunas)*. – 2003. – Vol. 39, № 11. – P. 1044-1056.

81. Airway epithelium controls lung inflammation and injury through the NF- κ B pathway / D. S. Cheng, W. Han, S. M. Chen [et al.] // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 178, № 10. – P. 6504-6513.

82. Two-year cognitive, emotional, and quality-of-life outcomes in acute respiratory distress syndrome / R. O. Hopkins, L. K. Weaver, D. Collinridge [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 171, № 4. – P. 340-347.

83. Lung neutrophils in the adult respiratory distress syndrome. Clinical and pathophysiologic significance / J. E. Weiland, W. B. Davis, J. F. Holter [et al.] // *Am. Rev. Respir. Dis.* – 1986. – Vol. 133, № 2. – P. 218-225.

84. A randomized phase II trial of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor therapy in severe sepsis with respiratory dysfunction / sepsis with respiratory dysfunction / J. J. Presneill, T. Harris, A. G. Stewart [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 166, № 2. – P. 138-143.

85. Harman E. M. Acute Respiratory Distress Syndrome [Електронний ресурс] / E. M. Harman // *Medscape reference*. – 2012. – Режим доступу до інф. : <http://emedicine.medscape.com/article/165139-overview>.

86. Interleukin-1 β causes acute lung injury via α v β 5 and α v β 6 integrin-dependent mechanisms / M. T. Ganter, J. Roux, B. Miyazawa [et al.] // *Circ. Res.* – 2008. – Vol. 102, № 7. – P. 804-812.

87. Airway injury in lung disease pathophysiology: selective airway stem and progenitor cell pools potentiated lung inflammation and alveolar dysfunction / S. D. Reynolds, A. Giangreco, K. U. Hong [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2004. – Vol. 287, № 6. – P. 1256-1265.

88. Давиденко І. С. Морфологічна діагностика гострого респіраторного дистрес-синдрому : клінічна лекція / І. С. Давиденко // *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. – 2012. – Т. 2, № 1. – С. 84-88.

89. Особливості клітинного складу бронхоальвеолярного лаважу в умовах впливу низьких доз іонізуючого випромінювання / В. О. Сушко, Л. І. Швайко, І. В. Абраменко [та ін.] // Український пульмонологічний журнал. – 2009. – № 1. – С. 37-40.

90. Administration of a specific inhibitor of neutrophil elastase attenuates pulmonary fibrosis after acute lung injury in mice / N. Fujino, H. Kubo, T. Suzuki [et al.] // *Exp. Lung Res.* – 2012. – Vol. 38, № 1. – P. 28-36.

91. Divergent effects of activated neutrophils on inflammation, kupffer cell/splenocyte activation, and lung injury following blunt chest trauma / M. Perl, M. Kieninger, M. S. Huber-Lang [et al.] // *Shock.* – 2012. – Vol. 37, № 2. – P. 210-218.

92. Proteinase-activated receptor-1 mediates elastase-induced apoptosis of human lung epithelial cells / T. Suzuki, T. J. Moraes, E. Vachon [et al.]. // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2005. – Vol. 33, № 3. – P. 231-247.

93. Neutrophil elastase as a predicting factor for development of acute lung injury / T. Kodama, H. Yukioka, T. Kato [et al.] // *Intern. Med.* – 2007. – Vol. 46, № 11. – P. 699-704.

94. Теслюк І. І. Критичні стани: гострий респіраторний дистрес-синдром / І. І. Теслюк // *Therapia. Український медичний вісник.* – 2010. – № 11. – С. 41-43.

95. Sivelestat (selective neutrophil elastase inhibitor) improves the mortality rate of sepsis associated with both acute respiratory distress syndrome and disseminated intravascular coagulation patients / M. Hayakawa, K. Katabami, T. Wada [et al.] // *Shock.* – 2010. – Vol. 33, № 1. – P. 14-18.

96. Neutrophil elastase inhibition in acute lung injury: results of the STRIVE study / B. G. Zeiher, A. Artigas, J. L. Vincent [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2004. Vol. 32, № 8. – P. 1695-1702.

97. Shock-induced neutrophil mediated priming for acute lung injury in mice: divergent effects of TLR-4 and TLR-4/FasL deficiency / A. Ayala, C. S. Chung, J. L. Lomas [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2002. – Vol. 161. № 6. – P.

2283-2294.

98. Role of alveolar macrophage and migrating neutrophils in hemorrhage-induced priming for ALI subsequent to septic challenge / J. Lomas-Neira, C. S. Chung, M. Perl [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2006. – Vol. 290, № 1. – P. L51-L58.

99. Pentoxifylline is as effective as leukocyte depletion for modulating pulmonary reperfusion injury / S. C. Clark, J. N. Rao, P. A. Flecknell [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2003. – Vol. 126, № 6. – P. 2052-2057.

100. Neutrophils and their Fc gamma receptors are essential in a mouse model of transfusion-related acute lung injury / M. R. Looney, X. Su, J. A. Van Ziffle [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2006. – Vol. 116, № 6. – P. 1615-1623.

101. Vermaelen K. Pulmonary dendritic cells / K. Vermaelen, R. Pauwels // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 172, № 5. – P. 530-551.

102. Dendritic cell subsets and immune regulation in the lung / H. J. de Heer, H. Hammad, M. Kool [et al.] // *Semin. Immunol.* – 2005. – Vol. 17, № 4. – P. 295-303.

103. In vivo depletion of lung CD11c+ dendritic cells during allergen challenge abrogates the characteristic features of asthma / L. S. van Rijt, S. Jung, A. Kleinjan [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2005. – Vol. 201, № 6. – P. 981-991.

104. Novak N. Dendritic cells as regulators of immunity and tolerance / N. Novak, T. Bieber // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 121, № 2. – P. 370-374.

105. Lymphocytes in the development of lung inflammation: a role for regulatory CD4+ T cells in indirect pulmonary lung injury / F. Venet, C. S. Chung, X. Huang [et al.] // *J. Immunol.* – 2009. – Vol. 183, № 5. – P. 3472-3480.

106. CD4+CD25+Foxp3+ Tregs resolve experimental lung injury in mice and are present in humans with acute lung injury / F. R. D'Alessio, K. Tsushima, N. R. Aggarwal [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2009. – Vol. 119, № 10. – P. 2898-2913.

107. Plasmacytoid dendritic cells control lung inflammation and monocyte

recruitment in indirect acute lung injury in mice / F. Venet, X. Huang, C. S. Chung [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2010. – Vol. 176, № 2. – P. 764-773.

108. Acute lung injury review / K. Tsushima, L. S. King, N. R. Aggarwal [et al.] // *Intern. Med.* – 2009. – Vol. 48, № 9. – P. 621-630.

109. Dendritic cells modulate lung response to *Pseudomonas aeruginosa* in a murine model of sepsis-induced immune dysfunction / F. Pene, B. Zuber, E. Courtine [et al.] // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 181, № 12. – P. 8513-8520.

110. Reversal of long-term sepsis-induced immunosuppression by dendritic cells / C. F. Benjamim, S. K. Lundy, N. W. Lukacs [et al.] // *Blood.* – 2005. – Vol. 105, № 9. – P. 3588-3595.

111. Beck-Schimmer B. Role of Epithelial ICAM-1 in Endotoxin-Induced lung Injury / B. Beck-Schimmer, R. C. Schimmer, T. Pasch // *Yearbook of Intensive Care and Emergency medicine* / ed. J. L. Vincent. – Berlin : Springer, 2003. – P. 3-10.

112. Bellingan G. J. The pulmonary physician in critical care. 6: The pathogenesis of ALI/ARDS / G. J. Bellingan // *Thorax.* – 2002. – Vol. 57, № 6. – P. 540-546.

113. Acute remodeling of parenchyma in pulmonary and extrapulmonary ARDS. An autopsy study of collagen elastic system fibers / E. M. Negri, C. Hoelz, C. S. V. Barbas [et al.] // *Pathol. Res. Pract.* – 2002. – Vol. 198, № 5. – P. 355-361.

114. Faffe D. S. Lung parenchymal mechanics in health and disease / D. S. Faffe, W. A. Zin // *Physiol. Rev.* – 2009. – Vol. 89, № 3. – P. 759-775.

115. Airway epithelium controls lung inflammation and injury through the NF- κ B pathway / D. S. Cheng, W. Han, S. M. Chen [et al.] // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 178, № 10. – P. 6504-6513.

116. DeClue A. E. Acute respiratory distress syndrome in dogs and cats: a review of clinical findings and pathophysiology / A. E. DeClue, L. A. Cohn // *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* – 2007. – Vol. 17, № 4. – P. 340-347.

117. Александрова Ю. Н. О системе цитокинов / Ю. Н. Александрова //

Педиатрия. – 2007. – Т. 86, № 3. – С. 124-128.

118. Attenuation of cytokine responsiveness during T cell development and differentiation / J. H. Marino, C. J. Wiele, I. M. Everhart [et al.] // J. Interferon Cytokine Res. – 2006. – Vol. 26, № 10. – P. 748-759.

119. Симбирцев А. С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 16-22.

120. Демьянов А. В. Диагностическая ценность исследования цитокинов в клинической практике / А. В. Демьянов, А. Ю. Котов, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 20

121. Возианов А. Ф. Цитокины. биологические и противоопухолевые свойства : учебное пособие / А. Ф. Возианов, А. К. Бутенко, К. П. Зак. – К. : Наук. думка, 1998. – С. 6–9, 50–59.

122. New polymorphisms in the interleukin-10 gene-relationships to myocardial infarction / C. Donger, J. L. Georges, V. Nicaud [et al.] // Europ. J. Clin. Invest. – 2001. – Vol. 31, № 1. – P. 9-14.

123. Cytokines and biotrauma in ventilator-induced lung injury: a critical review of the literature / F. J. Halbertsma, M. Vaneker, G. J. Scheffer, J. G. van der Hoeven // Neth. J. Med. – 2005. – Vol. 63, № 10. – P. 382-392.

124. Epidemiological features and risk factor analysis of children with acute lung injury / Yan Li, Quan Wang, Hui Chen [et al.] // World. J. Pediatr. – 2012. – Vol. 8, № 1. – P. 43-46.

125. Бережная Н. М. Иммунологические исследования в клинике: состояние вопроса // Иммунология. – 2006. – № 1. – С. 18-23.

126. DeClue A. E. Acute respiratory distress syndrome in dogs and cats: a review of clinical findings and pathophysiology / A. E. DeClue, L. A. Cohn // J. Vet. Emerg. Crit. Care. – 2007. – Vol. 17, № 4. – P. 340-347.

127. Chan D. L. Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome / D. L. Chan, E. A. Rozanski // Respiratory diseases in dogs and cats. – 1st ed. – St. Louis, Mo : Saunders, 2004. – P. 504-507.

128. Mittal N. In vivo effect of surfactant on inflammatory cytokines during

endotoxin-induced lung injury in rodents / N. Mittal, S. N. Sanyal // *J. Immunotoxicol.* – 2011. – Vol. 8, № 4. – P. 274-283.

129. Differential pulmonary transcriptomic profiles in murine lungs infected with low and highly virulent influenza H3N2 viruses reveal dysregulation of TREM1 signaling, cytokines, and chemokines / F. X. Ivan, J. C. Rajapakse, R. E. Welsch [et al.] // *Funct. Integr. Genomics.* – 2012. – Vol. 12, № 1. – P. 105-117.

130. Система цитокинов и болезни органов дыхания / Б. И. Гельцер, Е. В. Маркелова, Е. В. Просекова, Е. А. Кочеткова // *Тер. архив.* – 2002. – № 11. – С. 94-99.

131. Бережная Н. М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы / Н. М. Бережная // *Цитокины и воспаление.* – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 26-34.

132. Кноринг Г. Ю. Цитокиновая сеть как мишень системной энзимотерапии / Г. Ю. Кноринг // *Цитокины и воспаление.* – 2005. – Т. 4, № 4. – С. 45-49.

133. Acute lung injury and ARDS in acute pancreatitis: Mechanisms and potential intervention / Meng-Tao Zhou, Cheng-Shui Chen, Bi-Cheng Chen [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 16, № 17. – P. 2094-2099.

134. Shields C. J. Lung injury in acute pancreatitis: mechanisms, prevention, and therapy / C. J. Shields, D. C. Winter, H. P. Redmond // *Curr. Opin. Crit. Care.* – 2002. – Vol. 8, № 2. – P. 158-163.

135. Pastor C. M. Pancreatitis-associated acute lung injury: new insights / C. M. Pastor, M. A. Matthay, J. L. Frossard // *Chest.* – 2003. – Vol. 124, № 6. – P. 2341-2351.

136. Browne G. W. Pathophysiology of pulmonary complications of acute pancreatitis / G. W. Browne, C. S. Pitchumoni // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 12, № 44. – P. 7087-7096.

137. Acute pancreatitis-associated lung injury: pathophysiological mechanisms and potential future therapies / X. Zhao, R. Andersson, X. Wang [et

al.] // Scand. J. Gastroenterol. – 2002. – Vol. 37, № 12. – P. 1351-1358.

138. Bhatia M. Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome / M. Bhatia, S. Moochhala // J. Pathol. – 2004. – Vol. 202, № 2. – P. 145-156.

139. Puneet P. Chemokines in acute respiratory distress syndrome / P. Puneet, S. Moochhala, M. Bhatia // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2005. – Vol. 288, № 1. – P. L3-15.

140. A new understanding of pancreatitis-associated pulmonary injury / X. Zhao, C. B. Shi, X. D. Wang, R. Andersson // J. Organ. Dysfunct. – 2006. – Vol. 2. – P. 156-165.

141. Victor F. C. TNF-alpha and apoptosis: implications for the pathogenesis and treatment of psoriasis / F. C. Victor, A. B. Gottlieb // J. Drugs Dermatol. – 2002. – Vol. 1, № 3. – P. 264-275.

142. Aggarwal B. B. Tumor necrosis factors receptor associated signaling molecules and their role in activation of apoptosis, JNK, and NF-[kappa]B // Annals of the Rheumatic Diseases. – 2000. – Vol. 59, Suppl. 1. – P. i6-i16.

143. Zhu N. Removal of tumor necrosis factor-J and interleukin-1 by plasma exchange in patients with diffuse proliferative glomerulonephritis / N. Zhu, Z. Y. Zheng, X. M. Chen // J. Mod. Med. – 2004. – Vol. 14, № 9. – P. 24-30.

144. Хассан М. Значение интерлейкинов в прогрессировании хронической сердечной недостаточности у больных пожилого возраста с ишемической болезнью сердца / Мохамед Хассан, Мохамед Сид Ахмед // Вісник СумДУ. – 2005. – Т. 79, № 7. – С. 5-9.

145. Дуда А. К. Острый респираторный дистресс-синдром в инфектологии : лекция / А. К. Дуда, Ю. А. Жигарев, В. И. Трихлеб // Сімейна медицина. – 2010. – № 3. – С. 93-97.

146. Серебренникова С. Н. Влияние цитокинов на клетки очага воспаления / С. Н. Серебренникова, И. Ж. Семинский, Н. В. Семенов // Проблемы и перспективы современной науки : сб науч. трудов / под ред. Н. Н. Ильинских. – 2009. – Т. 2, Вып. 1. – С. 20-22.

147. Phenotype of mice and macrophages deficient in both phagocyte oxidase and inducible nitric oxide synthase / M. U. Shiloh, J. D. MacMicking, S. Nicholson [et al.] // *Immunity*. – 1999. – Vol. 10, № 1. – P. 29-38.

148. Nitric oxide and nitrotyrosine in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome / C. Sittipunt, K. P. Steinberg, J. T. Ruzinski [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 163, № 2. – P. 503-510.

149. Immunochemical detection of inducible NO synthase in human lung / W. R. Tracey, C. Xue, V. Klinghofer [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 1994. – Vol. 266, № 6, Pt.1. – P. 722-727.

150. Гудков Л. Л. Метаболиты оксида азота в процессах свободнорадикального окисления в модельных системах и ткани миокарда : автореф. дис. на соискание учен. степени канд. физ.-матем. наук : спец. 03.00.02 «Биофизика» / Гудков Леонид Леонидович. – М., 2008. – 21 с.

151. Роль оксида азота и цитокинов в развитии синдрома острого повреждения легких / Т. А. Шуматова, В. Б. Шуматов, Е. В. Маркелова, Л. Г. Сухотеplая // *Вестник интенсивной терапии*. – 2001. – № 1. – С. 15-19.

152. Weinberger B. Nitric oxide in the lung: therapeutic and cellular mechanisms of action / B. Weinberger // *Pharmacol. Ther.* – 1999. – Vol. 84, № 3. – P. 401-411.

153. Hart C. M. Nitric oxide in adult lung disease / C. M. Hart // *Chest*. – 1999. – Vol. 115, № 5. – P. 1407-1417.

154. Защищающие и повреждающие эффекты периодической гипоксии: роль оксида азота / Е. Б. Манухина, Х. Ф. Дауни, Р. Т. Маллет, И. Ю. Малышев // *Вестник РАМН*. – 2007. – № 2. – С. 27-33.

155. Kleinert H. Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase / H. Kleinert, P. Schwarz, U. Forstermann // *Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 384, № 10–11. – P. 1343-1364.

156. Яценко Ю. Б. Нерешенные вопросы использования оксида азота в качестве маркера диагностики и лечебного средства в неонатологии / Ю. Б. Яценко, А. Г. Буряк // *Современная педиатрия*. – 2010. – Т. 32, № 4. –

C. 97-100.

157. Цыпленкова С. Э. Клиническое значение определения уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе при заболеваниях легких у детей / С. Э. Цыпленкова, Ю. Л. Мизерницкий // Рос. вестник перинатол. и педиатрии. – 2005. – Т. 50, № 6. – С. 16-21.

158. Nitric Oxide Stimulates Macrophage Inflammatory Protein-2 Expression in Sepsis / R. A. Skidgel, X. Gao, V. Brovkovich [et al.] // J. Immunol. – 2002. – Vol. 169, № 4. – P. 2093-2101.

159. Regulation of Regional Lung Perfusion by Nitric Oxide / D. Rimeika, S. Nyren, N. P. Wiklund [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2004. – Vol. 170, № 4. – P. 450-455.

160. Матвеев А. Г. Феномен цитотоксичности и механизмы повреждения нейронов новой коры при гипоксии и ишемии / А. Г. Матвеев // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2004. – № 2. – P. 18–23.

161. Lowenstein C. I. Nitric oxide, a physiological messenger / C. I. Lowenstein, I. L. Oinerman, S. H. Snyder // Am. Intern. Med. – 1994. – Vol. 120, № 3. – P. 227-237.

162. Star R. A. Nitric oxide (Southwestern Internal Medicine Conference) / R. A. Star // Am. J. Med. Sci. – 2003. – Vol. 306, № 5. – P. 348-355.

163. Nitric Oxide in Health and Disease of the Respiratory System / F. L. M. Ricciardolo, P. J. Sterk, B. Gaston, G. Folkerts // Physiol. Rev. – 2004. – Vol. 84, № 3. – P. 731-765.

164. Panza J. A. Effect of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension / J. A. Panza, S. E. Epstein // J. Am. Coll. Cardiol. – 2003. – Vol. 21, № 5. – P. 1145-1151.

165. Значение определения нитритов-нитратов как маркеров дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистой патологии / Л. А. Лапшина, П. Г. Кравчун, А. Ю. Титова, О. В. Глебова // Укр. мед. часопис. – 2009. – Т. 74, № 6. – С. 49-52.

166. Яценко Ю. Б. Зміни нітроксидаційної системи у новонароджених

із запаленням легенів / Ю. Б. Ященко, Л. В. Ященко, О. Г. Буряк // Буковинський медичний вісник. – 2007. – Т. 11, № 4. – С. 85-87.

167. Коррекция нарушений NO-зависимой дилатации сосудов малого круга при остром респираторном дистресс-синдроме у кардиохирургических больных / В. И. Шумаков, В. Н. Попцов, Д. А. Косолапов [и др.] // Вестник Российской АМН. – 2006. – № 11. – С. 5-8.

168. Дмитренко Н. П. Роль взаимодействия путей метаболизма формальдегида и оксида азота в механизме их токсического действия / Н. П. Дмитренко, А. Холиан // Укр. біохім. журн. – 2005. – Т. 77, № 5. – С. 5-23.

169. Дубоссарская Ю. А. Патологическое и клиническое значение оксида азота в возникновении климактерических расстройств // Ю. А. Дубоссарская // Медицинские аспекты здоровья женщины. – 2009. – № 9. – С. 17-20.

170. Звягина Т. В. Клиническое значение изменений метаболизма оксида азота в пульмонологии / Т. В. Звягина, Т. В. Аникеева, Т. М. Белоконь // Український пульмонологічний журнал. – 2002. – № 1. – С. 66-68.

171. Демьянов А. В. Диагностическая ценность исследования цитокинов в клинической практике / А. В. Демьянов, А. Ю. Котов, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 20.

172. De Andrade J. A. Protein nitration, metabolites of reactive nitrogen species, and inflammation in lung allograft / J. A. de Andrade, J. P. Crow, L. Viera [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2000. – Vol. 161, № 6. – P. 2035-2042.

173. The apoptosome pathway to caspase activation in primary human neutrophils exhibits dramatically reduced requirements for cytochrome C / B. M. Murphy, A. J. O'Neill, C. Adrain // J. Exp. Med. – 2003. – Vol. 197, № 5. – P. 625-632.

174. Вьюшина А. В. Влияние пренатального стресса на процессы

окислительной модификации белков и активности Zn-Cu-супероксид-дисмутазы в головном мозге крыс : автореф. дис. на соискание учен. степени канд. биол. наук : спец. 03.00.13 «Физиология» / А. В. Вьюшина. – СПб., 2006. – 22 с.

175. Valko M. Metals, toxicity and oxidative stress / M. Valko, H. Morris, M. T. Cronin // *Curr. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 12, № 10. – P. 1161-1208.

176. The role of oxidative metabolism in pathogenesis of hyperbilirubinemia in infants / T. I. Abzhandadze, A. N. Kvezereli-Kopadze, E. Sh. Dzhaparidze [et al.] // *Georgian Med. News.* – 2006. – Vol. 136. – P. 77-80.

177. Rizvi S. I. Erythrocyte plasma membrane redox system in human aging / S. I. Rizvi, R. Jha, P. K. Maurya // *Rejuvenation Res.* – 2006. – Vol. 9, № 4. – P. 470-474.

178. Гидулянова К. В. Возрастные особенности модуляции активности антиоксидантных ферментов при индуцированном окислительном стрессе / К. В. Гидулянова // *Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Сер. Біологія.* – 2008 – Вип. 7, № 814. – С. 9-12.

179. Волков И. К. Антиоксидантная терапия при хронических заболеваниях легких у детей / И. К. Волков // *Педиатрия (приложение к журналу “Consilium Medicum”)*. – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 43-44.

180. Звягина Т. В. Клиническое значение изменений метаболизма оксида азота в пульмонологии / Т. В. Звягина, Т. В. Аникеева, Т. М. Белоконь // *Український пульмонологічний журнал.* – 2002. – № 1. – С. 66-68.

181. Antiinflammatory effects of hydrogen peroxide in neutrophil activation and acute lung injury / J. W. Zmijewski, E. Lorne1, Xia Zhao [et al.] // *Am. J. of Respiratory and Critical Care Medicine.* – 2009. – Vol. 179, № 8. – С. 694-704.

182. Oxidative changes of bronchoalveolar proteins in cystic fibrosis / V. Starosta, E. Rietschel, K. Paul [et al.] // *Chest.* – 2006. – Vol. 129, № 2. – P. 431-437.

183. Буряк О. Г. Вільнорадикальне окиснення та нітродергічний

дисбаланс у новонароджених із гострою дихальною недостатністю / О. Г. Буряк, Ю. Б. Яценко // Здоровье ребенка. – 2009. – Т. 18, № 3. – С. 93-95.

184. Соодаева С. К. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания / С. К. Соодаева // Пульмонология. – 2006. – № 5. – С. 122-126.

185. Mahajan A. S. Antihypertensive and antioxidant action of amlodipine and vitamin C in patients of essential hypertension / A. S. Mahajan, B. Rashmi, K. Nisheeth // J. Clin. Biochem. Nutr. – 2007. – Vol. 40, № 2. – P. 141-147.

186. Oxidative stress and antioxidant defence in patients with chronic hepatitis C patients before and after pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin therapy / L. Görenek, A. Acar, A. Aydın [et al.] // J. Transl. Med. – 2006. – Vol. 4. – P. 25.

187. Титов І. І. Стан окиснювальної модифікації білків та ліпідів у хворих у гострий період ішемічного інсульту / І. І. Титов, Г. М. Ерстенюк, Д. В. Близнюк // Біль, знеболювання й інтенсивна терапія. – 2007. – № 3. – С. 61-64.

188. Окислительная модификация белков и липидов плазмы крови больных раком легкого / Р. Н. Белоногов, Н. М. Титова, Ю. А. Дыхно [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – № 4. – С. 48-51.

189. Буряк О. Г. Значення процесів ліпопероксидації при дихальній недостатності у новонароджених / О. Г. Буряк // Львівський медичний часопис. – 2009. – Т. XV, № 4. – С. 31-34.

190. Alveolar antioxidant status in patients with acute respiratory distress syndrome / R. Schmidt, T. Luboeinski, P. Markart [et al.] // Eur. Respir. J. – 2004. – Vol. 24, № 6. – P. 994-999.

191. Bowler R. P. Pulmonary edema fluid antioxidants are depressed in acute lung injury / R. P. Bowler, L. W. Velsor, B. Duda // Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 31, № 9. – P. 2309-2315.

192. Selective NF-kB inhibition, but not dexamethasone, decreases acute

lung injury in a newborn piglet airway inflammation model / P. von Bismarck, K. Klemm, C. F. G. Wistädt [et al.] // *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*. – 2009. – Vol. 22, № 4. – P. 297-304.

193. Ward P. A. Acute lung injury: how the lung inflammatory response works / P. A. Ward // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 22, Suppl. 44. – P. 22s-23s.

194. Oxidant-antioxidant balance in acute lung injury / J. D. Lang, P. J. McArdle, P. J. O'Reilly, S. Matalon // *Chest*. – 2002. – Vol. 122, № 6, Suppl. 1. – P. 314S-320S.

195. Albumin and furosemide therapy in hypoproteinemic patients with acute lung injury / G. S. Martin, R. J. Mangialardi, A. P. Wheeler [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 30, № 10. – P. 2175-2182.

196. Sohi Kiranjit K. Nimesulide affects antioxidant status during acute lung inflammation in rats / K. Sohi, L. K. Khanduja // *Indian J. of Biochemistry and Biophysics*. – 2003. – Vol. 40, № 4. – P. 238-245.

197. Oxidative Stress and Acute Lung Injury / C. W. Chow, M. T. Herrera Abreu, T. Suzuki, G. P. Downey // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2003. – Vol. 29, № 4. – P. 427-431.

198. Khadaroo R. G. ARDS and the multiple organ dysfunction syndrome. Common mechanisms of a common systemic process / R. G. Khadaroo, J. C. Marshall // *Crit. Care Clin.* – 2002. – Vol. 18, № 1. – P. 127-141.

199. Fink M. P. Role of reactive oxygen and nitrogen species in acute respiratory distress syndrome / M. P. Fink // *Curr. Opin. Crit. Care*. – 2002. – Vol. 8, № 1. – P. 6-11.

200. Babior B. M. The neutrophil NADPH oxidase / B. M. Babior, J. D. Lambeth, W. Nauseef // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2002. – Vol. 397, № 2. – P. 342-344.

201. Terada L. S. Oxidative stress and endothelial activation / L. S. Terada // *Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 30, № 5. – P. S186-S191.

202. NADPH oxidase(s): new source(s) of reactive oxygen species in the vascular system? / L. Van Heerebeek, C. Meischl, W. Stoker [et al.] //

J. Clin. Pathol. – 2002. – Vol. 55, № 8. – P. 561-568.

203. Two novel proteins activate superoxide generation by the NADPH oxidase NOX1 / B. Bánfi, R. A. Clark, K Steger, K. H. Krause // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278, № 6. – P. 3510-3513.

204. Perivascular superoxide anion contributes to impairment of endothelium-dependent relaxation: role of gp91(phox) / F. E. Rey, X. C. Li, O. A. Carretero [et al.] // Circulation. – 2002. – Vol. 106, № 19. – P. 2497-2502.

205. Superoxide production and expression of nox family proteins in human atherosclerosis / D. Sorescu, D. Weiss, B. Lassègue [et al.] // Circulation. – 2002. – Vol. 105, № 12. – P. 1429-1435.

206. Nieto N. Cytochrome P450 2E1-derived reactive oxygen species mediate paracrine stimulation of collagen I protein synthesis by hepatic stellate cells / N. Nieto, S. L. Friedman, A. I. Cederbaum // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277, № 12. – P. 9853-9864.

207. Meneshian A. The physiology of endothelial xanthine oxidase: from urate catabolism to reperfusion injury to inflammatory signal transduction / A. Meneshian, G. B. Bulkley // Microcirculation. – 2002. – Vol. 9, № 3. – P. 161-175.

208. Li C. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury / C. Li, R. M. Jackson // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2002. – Vol. 282, № 2. – P. 227-241.

209. Ceramide generation in situ alters leukocyte cytoskeletal organization and beta 2-integrin function and causes complete degranulation / M. J. Feldhaus, A. S. Weyrich, G. A. Zimmerman, T. M. McIntyre // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277, № 6. – P. 4285-4293.

210. Jacobson J. R. Activation of NFkB and coagulation in lung injury by hyperoxia and excessive mechanical ventilation: one more reason "low and slow" is the way to go? / J. R. Jacobson, K. G. Birukov // Transl. Res. – 2009. – Vol. 154, № 5. – P. 219-221.

211. Role for nuclear factor-kappaB in augmented lung injury because of

interaction between hyperoxia and high stretch ventilation / Y. Y. Liu, S. K. Liao, C. C. Huang [et al.] // *Transl. Res.* – 2009. – Vol. 154, № 5. – P. 228-240.

212. Vitamin E reduces transendothelial migration of neutrophils and prevents lung injury in endotoxin-induced airway inflammation / D. Rocksén, B. Ekstrand-Hammarström, L. Johansson, A. Bucht // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2003. – Vol. 28, № 2. – P. 199-207.

213. Карімов І. З. Окислительная модификация белков и перекисное окисление липидов в развитии метаболической интоксикации при патологии / И. З. Карімов // *Лабор. діагностика.* – 2005. – № 1. – С. 7-13.

214. Lee S. J. Astaxanthin inhibits nitric oxide production and inflammatory gene expression by suppressing NF-kappa B activation / S. J. Lee, S. K. Bai, K. S. Lee // *Mol. Cells.* – 2003. – Vol. 16, № 1. – P. 97-105.

215. Minko T. Selected contribution: Lung hypoxia: antioxidant and antiapoptotic effects of liposomal alpha-tocopherol / T. Minko, A. Stefanov, V. Pozharov // *J. Appl. Physiol.* – 2002. – Vol. 93, № 4. – P. 1550-1560.

216. Sarma J. Vidya Oxidants and Redox Signaling in Acute Lung Injury / J. Vidya Sarma, P. A. Ward / *Comprehensive Physiology.* – 2011. – Vol. 1, № 3. – P. 1365-1381.

217. Петрова М. А. Особенности течения и лечения аллергических заболеваний при сочетании с некоторыми другими заболеваниями внутренних органов / М. А. Петрова, Л. И. Гулева, О. В. Лаврова // *Новые Санкт-Петербург. врач. ведомости.* – 2006. – № 2. – С. 64-73.

218. Budhiraja R. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension / R. Budhiraja, R. M. Tuder, P. M. Hassoun // *Circulation.* – 2004. – Vol. 109, № 2. – P. 159-165.

219. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system / F. L. Ricciardolo, P. J. Sterk, B. Gaston [et al.] // *Physiol. Rev.* – 2004. – Vol. 84, № 3. – P. 731-765.

220. Соодаева С. К. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе ХОБЛ / С. К. Соодаева // *Атмосфера.* – 2002. – № 1. – С. 24-25.

221. Роль радикалів у окислюванні ліпропротеїнів плазми крові людини / І. М. Бараненко, С. А. Щекатоліна, І. Бейзигель, А. С. Контуш // Одеський медичний вісник. – 2003. – № 6. – С. 9-12.
222. Мартынова Е. А. Регуляция активности каспаз в апоптозе / Е. А. Мартынова // Биооргани. химия. – 2003. – Т. 29, № 5. – С. 518-543.
223. Akhtar R. S. Bcl-2 family regulation of neuronal development and neurodegeneration / R. S. Akhtar, J. M. Ness, K. A. Roth // Biochim. Biophys. Acta. – 2004. – Vol. 1644, № 2–3. – P. 189-203.
224. Borner C. The Bcl-2 protein family: sensors and checkpoints for life-or-death decisions / C. Borner // Mol. Immunol. – 2003. – Vol. 39, № 11. – P. 615-647.
225. Bouillet P. BH3-only proteins evolutionary conserved proapoptotic Bcl-2 family members essential for initiating programmed cell death / P. Bouillet, A. Strasser // J. Cell Sci. – 2002. – Vol. 115, Pt. 8 – P. 1567-1574.
226. The Bcl-2-regulated apoptotic pathway / S. Willis, C. L. Day, M. G. Hinds, D. C. S. Huang // J. Cell Sci. – 2003. – Vol. 116, Pt. 20. – P. 4053-4056.
227. Degterev A. A decade of caspases / A. Degterev, M. Boyce, J. Yuan // Oncogene. – 2003. – Vol. 22, № 53. – P. 8543-8567.
228. Clonidine increases caspase-3 mRNA level and DNA fragmentation in the developing brainstem / N. N. Dygalo, A. V. Bannova, T. S. Kalinina, G. T. Shishkina // Dev. Brain Res. – 2004. – Vol. 152, № 2. – P. 225-231.
229. Apoptosis in lung injury and remodeling / X. Li, R. Shu, G. Filippatos [et al.] // J. Appl. Physiol. – 2004. – Vol. 97, № 4. – P. 1535-1542.
230. Inhibition of neutrophil apoptosis via sphingolipid signaling in acute lung injury / W. C. Lin, C. F. Lin, C. L. Chen [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2011. – Vol. 339, № 1. – P. 45-53.
231. Inhibition of neutrophil apoptosis by PAI-1 / J. W. Zmijewski, H. B. Bae, J. S. Deshane [et al.] // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2011. – Vol. 301, № 2. – P. L247-254.

232. White S. R. Apoptosis and the airway epithelium / S. R. White // J. Allergy (Cairo). – 2011. – Vol. 2011. – P. 948406.

233. Mitochondria-mediated apoptosis of lung epithelial cells in idiopathic interstitial pneumonias / K. Kuwano, N. Hagimoto, T. Maeyama [et al.] // Lab. Invest. – 2002. – Vol. 82, № 12. – P. 1695-1706.

234. Oxidative stress in lung epithelial cells from patients with idiopathic interstitial pneumonias / K. Kuwano, N. Nakashima, I. Inoshima [et al.] // Eur. Respir. J. – 2003. – Vol. 21, № 2. – P. 232-240.

235. Apoptosis in the normal and inflamed airway epithelium: role of zinc in epithelial protection and procaspase-3 regulation / A. Q. Truong-Tran, D. Grosser, R. E. Ruffin [et al.] // Biochem. Pharmacol. – 2003. – Vol. 66, № 8. – P. 1459-1468.

236. Пальцев М. А. Межклеточные взаимодействия / М. А. Пальцев, А. А. Иванов, С. Е. Северин. – 2-е изд., перер. и доп. – М., 2003. – 288 с.

237. Shao W. H. Disturbances of apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus / W. H. Shao, P. L. Cohen // Arthritis Res. Ther. – 2011. – Vol. 13, № 1. – P. 202.

238. Икреама L. C. Diffuse alveolar hemorrhage-induced respiratory failure / L. C. Икреама, В. К. Bailes // Crit. Care Nurs. Q. – 2012. – Vol. 35, № 2. – P. 124-133.

239. Петрищев Н. Н. Содержание растворимых маркеров апоптоза и циркулирующих аннексин V-связанных апоптотических клеток в крови больных острым коронарным синдромом / Н. Н. Петрищев, Л. В. Васина, А. В. Луговая // Вестник Санкт-Петербургского Университета. – 2008. – Сер. 11, вып. 1. – С. 14-23.

240. Laflamme C. Apoptosis of bronchoalveolar lavage lymphocytes in hypersensitivity pneumonitis / C. Laflamme, E. Israël-Assayag, Y. Cormier // Eur. Respir. J. – 2003. – Vol. 21, № 2. – P. 225-231.

241. Ходырева Л. А. Особенности индукции апоптоза в культуре лимфоцитов периферической крови больных с различными формами острого

пиелонефрита / Л. А. Ходырева, В. Н. Синюхин, Л. А. Харламова // Экспериментальная и клиническая урология. – 2010. – № 2. – С. 37-41.

242. Early T cell activation correlates with expression of apoptosis markers in patients with endstage renal disease / P. Meier, E. Dayer, E. Blanc, J. P. Wauters // J. Am. Soc. Nephrol. – 2002. – Vol. 13, № 1. – P. 204-212.

243. Bantel H. Cell death in sepsis matter of how, when, where / H. Bantel, K. Shultze-Osthoff // Critical care. – 2009. – Vol. 13, № 4. – P. 173-174.

244. Hotchkiss R. S. Prevention of lymphocytes apoptosis-a potential treatment of sepsis? / R. S. Hotchkiss, C. M. Coopersmith, I. T. Karl // Clin. Inf. Dis. – 2005. – Vol. 15. № 41, Suppl. 7. – P. 465-464.

245. Lymphocyte apoptosis, caspase activation and inflammatory response in septic shock / G. Delogue, G. Famulako, G. Tellan [et al.] // Infection. – 2008. – Vol. 36, № 5. – P. 485-487.

246. Enhanced T-cell apoptosis in human septic shock is associated with alteration of costimulatory pathways / P. M. Roger, H. Hyvernats, T. P. Breitmayer [et al.] // Eur. J. Clin. Inf. Dis. – 2010. – Vol. 28, № 6. – P. 575-578.

247. Roguiera T. Mitochondrial dysfunction during sepsis, impact and possible regulating role of hypoxia inducible factor 1-alfa / T. Roguiera, M. Andersen, S. Dajafarezadeh // Med. Intensive. – 2009. – Vol. 33, № 8. – P. 385-392.

248. Паунова С. С. Апоптоз – физиология и патология / С. С. Паунова // Нефрология и диализ. – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 132-137.

249. Involvement of redox events in caspase activation in zinc-depleted airway epithelial cells / J. E. Carter, A. Q. Truong-Tran, D. Grosser [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2002. – Vol. 297, № 4. – P. 1062-1070.

250. Eissner G. Ligands working as receptors: reverse signaling by members of the TNF superfamily enhance the plasticity of the immune system / G. Eissner, W. Kolch, P. Scheurich // Cytokine Growth Factor Rev. – 2004. – Vol. 15, № 5. – P. 353-366.

251. Gurtin J. F. Live and let die: regulatory mechanisms in Fas-mediated

apoptosis / J. F. Gurtin, T. G. Cotter // *Cellular Signalling*. – 2003. – Vol. 15, № 11. – P. 983–992.

252. Houston A. The Fas signalling pathway and its role in the pathogenesis of cancer / A. Houston, J. O'Connell // *Curr Opin Pharmacol*. – 2004. – Vol. 4, № 4. – P. 321-326.

253. Vital functions for lethal caspases / S. Launay, O. Hermine, M. Fontenay [et al.] // *Oncogene*. – 2005. – Vol. 24, № 33. – P. 5137-5148.

254. Wang Z. B. Pathways to caspase activation / Z. B. Wang, Y. Q. Liu, Y. F. Cui // *Cell Biol. Int*. – 2005. – Vol. 29, № 7. – P. 489-496.

255. Martinon F. Inflammatory caspases: Linking an intracellular innate immune system to autoinflammatory diseases / F. Martinon, J. Tschopp // *Cell*. – 2004. – Vol. 117 № 5. – P. 561-574.

256. Fu Y. F. Bcl-2 family proteins and apoptosis / Y. F. Fu, T. J. Fan // *Acta Biochim Biophys Sin*. – 2002. – Vol. 34, № 4. – P. 389-394.

257. The DNA damage-induced decrease of Bcl-2 is secondary to the activation of apoptotic effector caspases / J. Milosevic, S. Hoffarth, C. Huber, M. Schuler // *Oncogene*. – 2003. – Vol. 22, № 44. – P. 6852-6856.

258. The role of apoptosis in the pathophysiology of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): an up-to-date cell-specific review / V. Galani, E. Tatsaki, M. Bai // *Pathol. Res. Pract*. – 2010. – Vol. 206, № 3. – P. 145-150.

259. Zamora R. Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases / R. Zamora, Y. Vodovotz, T. R. Billiar // *Mol. Med*. – 2000. – Vol. 6, № 5. – P. 347-373.

260. Li J. The role of nitric oxide in apoptosis / J. Li, T. R. Billiar // *Semin. Perinatol*. – 2000. – Vol. 24, № 1. – P. 46-50.

261. Bauer G. Reactive oxygen and nitrogen species: Efficient, selective, and interactive signals during intercellular induction of apoptosis / G. Bauer // *Anticancer Res*. – 2000. – Vol. 20, № 6B. – P. 4115-4139.

262. Nitric oxide mediates apoptosis induction selectively in transformed fibroblasts compared to nontransformed fibroblasts / S. Heigold, C. Sers,

B. Wibke [et al.]// *Carcinogenesis*. – 2002. – Vol. 23, № 6. – P. 929-941.

263. Лю Б. Н. Кислородно-перекисная концепция апоптоза: повышение уровня аргументации и развития / Б. Н. Лю, М. Б. Лю // *Успехи современной биологии*. – 2005. – Т. 125, № 6. – С. 567-578.

264. Лю Б. Н. Старение, возрастные патологии и канцерогенез (кислородно-перекисная концепция) / Б. Н. Лю. – Алматы : Деуир, 2003. – 808 с.

265. Loss of cardiolipin and mitochondria during programmed neuronal death: evidence of a role for lipid peroxidation and autophagy / R. A. Kirkland, R. M. Adibhatla, J. F. Hatcher, J. L. Franklin // *Neuroscience*. – 2002. – Vol. 115, № 2. – P. 587-602.

266. Cytochrome c release from mitochondria proceeds by a two-step process / M. Ott, J. D. Robertson, V. Gogvadze [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2002. – Vol. 99, № 3. – P. 1259-1263.

267. Graziewicz M. A. The mitochondrial DNA polymerase as a target of oxidative damage / M. A. Graziewicz, B. J. Day, W. C. Copeland // *Nucl. Acids Res*. – 2002. – Vol. 30, № 13. – P. 2817-2824.

268. Thioredoxin-2 (TRX-2) is an essential gene regulating mitochondria-dependent apoptosis / T. Tanaka, F. Hosoi, Y. Yamaguchi-Iwai [et al.] // *EMBO Journal*. – 2002. – Vol. 21, № 7. – P. 1695-1703.

269. Newmeyer D. D. Mitochondria releasing power for life and unleashing the machineries of death / D. D. Newmeyer, S. Ferguson-Miller // *Cell*. – 2003. – Vol. 112, № 4. – P. 481-490.

270. Oxygen stress effects on proliferation rates and heat shock proteins in lymphocytes / M. Shinkai, N. Shinomiya, S. Kanoh [et al.] // *Aviat. Space and Environ. Med*. – 2004. – Vol. 75, № 2. – P. 109-113.

271. Комарова Е. Ю. Роль шаперона Hsp70 в реакции клеток лейкемии человека на противоопухолевые препараты / Е. Ю. Комарова, Б. А. Маргулис, И. В. Гужова // *Цитология*. – 2004. – Т. 46, № 6. – С. 550-556.

272. Doerschuk C. M. Mechanisms of leukocyte sequestration in inflamed

lungs / C. M. Doerschuk // *Microcirculation*. – 2001. – Vol. 8, № 2. – P. 71-88.

273. Interactions between CBP, NF-kappaB, and CREB in the lungs after hemorrhage and endotoxemia / R. Shenkar, H. K. Yum, J. Arcaroli [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* – 2001. – Vol. 281, № 2. – P. L418-L426.

274. , Molecular signatures of sepsis: multiorgan gene expression profiles of systemic inflammation / A. M. Chinnaiyan, M. Huber-Lang, C. Kumar-Sinha [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2001. – Vol. 159, № 4. – P. 1199-1209.

275. Priming for enhanced alveolar fibrin deposition after hemorrhagic shock: role of tumor necrosis factor // J. Fan, A. Kapus, Y.H. Li [et al.] // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 2000. – Vol. 22, № 4. – P. 412-421.

276. Regulation of toll-like receptor 4 expression in the lung following hemorrhagic shock and lipopolysaccharide / J. Fan, A. Kapus, P. A. Marsden [et al.] // *J. Immunol.* – 2002. – Vol. 168, № 10. – P. 5252-5259.

277. Acute lung injury: functional genomics and genetic susceptibility / G. D. Leikauf, S. A. McDowell, S. C. Wesselkamper [et al.] // *Chest*. – 2002. – Vol. 121, Suppl. 3. – P. 70S-75S.

278. Cepkova M. Pharmacotherapy of acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome / M. Cepkova, M. A. Matthay // *J. Intensive Care Med.* – 2006. – Vol. 21, № 3. – P. 119-143.

279. Esmon C. T. Protein C anticoagulant pathway and its role in controlling microvascular thrombosis and inflammation / C. T. Esmon // *Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 29, Suppl. 7. – P. S48-S51.

280. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis / G. R. Bernard, J. L. Vincent, P. F. Laterre [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2001. – Vol. 344, № 10. – P. 699-709.

281. Tobin M. J. Critical care medicine in AJRCCM 2001 / M. J. Tobin // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 165, № 5. – P. 565-583.

282. Pulmonary dead-space fraction as a risk factor for death in the acute respiratory distress syndrome / T. J. Nuckton, J. A. Alonso, R. H. Kallet [et al.] //

N. Engl. J. Med. – 2002. – Vol. 346, № 17. – P. 1281-1286.

283. Matute-Bello G. Animal models of acute lung injury / G. Matute-Bello, C. Frevert, T. Martin // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2008. – Vol. 295, № 3. – P. 379-399.

284. Zhou Z. Physiologic, Biochemical, and Imaging Characterization of Acute Lung Injury in Mice / Z. Zhou, J. Kozlowski, D. P. Schuster // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 172, № 3. – P. 344-351.

285. Mechanical ventilation aggravates transfusion-related acute lung injury induced by MHC class I antibodies / A. P. Vlaar, E. K. Wolthuis, J. J. Hofstra [et al.] // *Critical Care.* – 2010. – Vol. 14, Suppl 1. – P. 192.

286. Endotoxin-induced lung injury in mice: structural, functional, and biochemical responses / M. Rojas, C. R. Woods, A. L. Mora [et al.] // *Lung Physiol.* – 2005. – Vol. 288, № 2. – P. L333-L341.

287. Acid-induced lung injury. Protective effect of anti-interleukin-8 pretreatment on alveolar epithelial barrier function in rabbits / K. Modelka, J. F. Pittet, H. G. Folkesson [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1999. – Vol. 160, № 5, Pt. 1. – P. 1450-1456.

288. Хурані І. Ф. Вплив кверцетину та тіотріазоліну на хіміопроменеве пошкодження легень у щурів різних генетичних ліній / І. Ф. Хурані // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2011. – № 3. – С. 57-63.

289. Зависимость между антиоксидантным действием флавоноидов и их влиянием на вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях эндотелиальной дисфункции / И. Н. Тюренков, А. В. Воронков, А. А. Слиецанс [и др.] // *Эксперим. и клинич. фармакология.* – 2010. – Т. 73, № 10. – С. 14-16.

290. Халимова Х. М. Эффективность Корвитина при остром ишемическом инсульте с сердечно-сосудистыми нарушениями / Х. М. Халимова, М. М. Якубова // *Укр. мед. часопис.* – 2011. – № 4. – С. 61-63.

291. Enkhbaatar P. Pathophysiology of acute lung injury in combined burn

and smoke inhalation injury / P. Enkhbaatar, D. L. Traber // *Clinical Science*. – 2004. – Vol. 107, № 2. – P. 137-143.

292. Toll-Like Receptor 4, But Not Toll-Like Receptor 2, Is a Signaling Receptor for Escherichia and Salmonella Lipopolysaccharides / R. I. Tapping, S. Akashi, K. Miyake [et al.] // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 165, № 10. – P. 5780-5787.

293. Shock and acute lung injury in rabbits with peritonitis: failure of the neutrophil response to localized infection / G. Matute-Bello, C. W. Frevert, O. Kajikawa [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 16, № 1. – P. 234-243.

294. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко [та ін.]. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.

295. Березовский В. А. Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности / В. А. Березовский. – К. : Наукова думка, 1978. – 216 с.

296. Matute-Bello G. Animal models of acute lung injury / G. Matute-Bello, C. W. Frevert, T. R. Martin // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2008. – Vol. 295, № 3. – P. 379-399.

297. НСІ-індукований гострий респіраторний дистрес-синдром / А. А. Гудима, М. І. Марущак Г. Г. Габор [та ін.] // *Здобутки клін. та експерим. медицини*. – 2010. – № 2. – С. 39-42.

298. Lung injury and recovery in a murine model of unilateral acid aspiration: functional, biochemical, and morphologic characterization / M. Amigoni, G. Bellani, M. Scanziani [et al.] // *Anesthesiology*. – 2008. – Vol. 108, № 6. – P. 1037-1046.

299. The alveolar epithelium can initiate the extrinsic coagulation cascade through expression of tissue factor / J. Bastarache, L. Wang, T. Geiser [et al.] // *Thorax*. – 2007. – Vol. 62, № 7. – P. 608-616.

300. Zarbock A. Complete reversal of acid-induced acute lung injury by blocking of platelet-neutrophil aggregation / A. Zarbock, K. Singbartl, K. Ley //

J. Clin. Invest. – 2006. – Vol. 116, № 12. – P. 3211.

301. Самсонова М. В. Стандартные цитопрепараты бронхоальвеолярного лаважа в исследовании и патологии легких / М. В. Самсонова, А. Л. Черняев // Лаборатория. – 1997. – № 6. – С. 18-21.

302. Пат. 63892 Україна, МПК А61В 17/00. Спосіб відбору крові в експерименті у щурів / Гудима А. А., Доброродній А. В., Марушак М. І., Доброродній В. Б., Коптюх В. В. – № u 201103185 ; заявл. 18.03.2011 ; опубл. 25.10.2011, Бюл. № 20.

303. Wet-to-dry ratio of lung tissue and surfactant outwash after one-lung flooding / S. Klinzing, T. Lesser, H. Schubert [et al.] //Res. Exp. Med. (Berl). – 2000. – Vol. 200, № 1. – P. 27-33.

304. Age-related standards for total lymphocyte, CD4+ and CD8+ T cell counts in children born in Europe / M. Bunders, M. Cortina-Borja, M. L Newell, European Collaborative Study // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 2005. – Vol. 24, № 7. – P. 595-600.

305. Чернушенко Е. Ф. Иммунологические методы исследований в клинике / Е. Ф. Чернушенко, Л. С. Когосова. – К. : Здоров'я, 1978. – 159 с.

306. Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. А. В. Караулова. – М.: МИА, 2002. – 651 с

307. Гаєвська М. Ю. Циркулюючі імунні комплекси за умов норми та патології / М. Ю. Гаєвська // Вісник наукових досліджень. – 2000. – № 4. – С. 37-40.

308. Средние молекулы как вероятные регуляторы системы эритрона у спортсменов-лыжников / И. А. Волчегорский, Д. А. Дятлов, Е. И. Львовская [и др.] // Физиология человека. – 1996. – Т. 22, № 3. – С. 136-137.

309. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.

310. Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс ; пер. с англ. – М. : Мир, 1991. – 544 с.

311. Арчаков А. И. Модификация белков активным кислородом и их

распад / А. И. Арчаков, И. М. Михосоев // Биохимия. – 1998. – Т. 54, № 2. – С. 179-185.

312. Бузлама В. С. Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма животных / В. С. Бузлама, М. И. Рецкий, Н. П. Мещеряков, Т. Е. Рогачева. – Воронеж, 1997. – 35 с.

313. Гріднев О. Є. Перекисне окислення ліпідів і печінка / О. Є. Гріднев // Сучасна гастроентерол. – 2005. – № 5. – С. 80-83.

314. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Коробейникова // Лаб. дело. – 1989. – № 7. – С. 8-10.

315. Чевари С. Роль супероксидредуктазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.

316. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.

317. Клінічна та лабораторна діагностика. Нормативні директивні правові документи. – К. : МВЦ «Медінформ», 2003. – 856 с.

318. Moffat J. A. Investigations into the role of sulfhydryl groups in the mechanism of action of the nitrates / J. A. Moffat, P. W. Armstrong, G. S. Marks // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. – 1982. – Vol. 60, № 10. – P. 1261-1266.

319. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids / J. Stock, J. M. Gutteridge, R. J. Sharp, I. L. Dormandy // Clin. Sci. and Mol. Med. – 1974. – Vol. 47, № 3. – P. 215-222.

320. Зміни концентрації NO_2^- в біологічних рідинах при захворюваннях на рак шлунка / О. Я. Складов, І. П. Федорович, В. М. Коробов [та ін.] // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 55-57.

321. Shimabukuro D. W. Injury and repair in lung and airways / D. W. Shimabukuro, T. Sawa, M. A. Gropper // Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 31,

Suppl. 8. – P. 524-531.

322. Интегральная реография тела как метод оценки состояния систем кровообращения при хирургических заболеваниях / И. С. Колесников, М. И. Лыткин, М. И. Тищенко [и др.] // Вести хирургии. – 1981. – № 1. – С. 9-12.

323. Пилипчук В. В. Реовазографічні показники серед осіб із різним рівнем фізичної активності / В. В. Пилипчук // Вісник Волинського державного університету. Серія «Медицина». – 2008. – Вип. 9. – С. 75-76.

324. Сенников С. В. Методы определения цитокинов / С. В. Сенников, А. Н. Силков // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 22-27.

325. Mehta D. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability / D. Mehta, A. B. Malik // *Physiol. Rev.* – 2006. – Vol. 86, № 1. – P. 279-367.

326. Looney M. R. Neutrophil sandwiches injure the microcirculation / M. R. Looney, M. A. Matthay // *Nat. Med.* – 2009. – Vol. 15, № 4. – P. 364-366.

327. Caveolin-1 Inhibits Expression of Antioxidant Enzymes through Direct Interaction with Nuclear Erythroid 2 p45-related Factor-2 (Nrf2) / W. Li, H. Liu, J. S. Zhou [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2012. – Vol. 287, № 25. – P. 20922-20930.

328. Apoptosis of neutrophils / N. A. Maianski, A. N. Maianski, T. W. Kuijpers, D. Roos // *Acta Haematol.* – 2004. – Vol. 111, № 1-2. – P. 56-66.

329. The mitochondrial network of human neutrophils: role in chemotaxis, phagocytosis, respiratory burst activation, and commitment to apoptosis / G. Fossati, D. A. Moulding, D. G. Spiller [et al.] // *J. Immunol.* – 2003. – Vol. 170, № 4. – P. 1964-1972.

330. Часовских Н. Ю. Роль протеинкиназ JNK и p38 в регуляции апоптоза мононуклеарных лейкоцитов крови при окислительном стрессе / Н. Ю. Часовских // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. – № 3. – С. 38-43.

331. Increased platelet phosphatidylserine exposure and caspase activation in chronic uremia / M. Bonomini, S. Dottori, L. Amoroso [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2004. – Vol. 2, № 8. – P. 1275-1281.

332. Нестеров Ю. В. Структурные особенности аэрогематического барьера легких в условиях острого гипо- и гипероксического стресса / Ю. В. Нестеров, Н. В. Турченко // *Естественные науки*. – 2010. – № 3. – С. 112-116.

333. Сорочинников А. П. Гистологическая и микроскопическая техника : руководство / А. П. Сорочинников, А. Е. Доросевич. – Смоленск : САУ, 2000. – 476 с.

334. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.

335. Орлов А.И. Математика случая: Вероятность и статистика – основные факты : учебное пособие. – М. : МЗ-Пресс, 2004. – 110 с.

336. Ткаченко Т. А. Кислотно-лужный стан крові вагітних щурів за введення їм ацетату свинцю / Т. А. Ткаченко // *Укр. біохім. журн.* – 2008. – Т. 80, № 5. – С. 112-116.

337. Kathirgamanathan A. Indices of pulmonary oxygenation in pathological lung states: an investigation using high-fidelity, computational modelling / A. Kathirgamanathan, R. A. McCahon, J. G. Hardman // *Br. J. Anaesth.* – 2009. – Vol. 103, № 2. – P. 291-297.

338. Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Airway pressures and early barotraumas in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome / M. D. Eisner, B. T. Thompson, D. Schoenfeld [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 165, № 7. – P. 978-982.

339. Outcome of acid ingestion related aspiration pneumonia / Y. L. Tseng, M. H. Wu, M. Y. Lin, W. W. Lai // *Eur. J. Cardiothorac Surg.* – 2002. – Vol. 21, № 4. – P. 638-643.

340. Marik P.E. Aspiration pneumonitis and aspiration pneumonia / P. E. Marik // *N. Engl. J. Med.* – 2001. – Vol. 344, № 9. – P. 665-671.

341. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated / K. Ley, C. Laudanna, M. I. Cybulsky, S. Nourshargh // *Nat. Rev. Immunol.* – 2007. – Vol. 7, № 9. – P. 678-689.

342. Gattinoni L. Assessing gas exchange in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome: diagnostic techniques and prognostic relevance / L. Gattinoni, E. Carless, M. Cresson // *Curr. Opin. in Crit. Care.* – 2011. – Vol. 17, № 1. – P. 18-23.

343. The effects of fenoterol inhalation after acid aspiration-induced lung injury / M. T. Pawlik, T. Schubert, K. P. Ittner [et al.] // *Anesthesia and analgesia.* – 2009. – Vol. 109, № 1. – P. 143-149.

344. Петрунь Л. М. Вплив препарату “Намацит” на деякі ланцюги обміну речовин у старих щурів / Л. М. Петрунь, Н. В. Сілонова // *Пробл. старения и долголетия.* – 2010. – Т. 19, № 2. – С. 128-133.

345. Pulse oximetry saturation to fraction inspired oxygen ratio as a measure of hypoxia under general anesthesia and the influence of positive end-expiratory pressure / R. S. Tripathi, J. M. Blum, A. L. Rosenberg, K. K. Tremper // *J. Crit. Care.* – 2010. – Vol. 25, № 3. – P. 542-613.

346. Мельничук Д. О. Вікові особливості кумуляції кадмію в органах токсикованих щурів і зміни показників кислотно-лужного стану крові за різних умов антиоксидантного захисту організму / Д. О. Мельничук, Н. М. Мельникова, Є. А. Деркач // *Укр. біохім. журн.* – 2004. – Т. 76, № 6. – С. 95-99.

347. The efficacy of spironolactone in the treatment of acute respiratory distress syndrome-induced rats / C. Atalay, N. Dogan, S. Aykan [et al.] // *Singapore Med. J.* – 2010. – Vol. 51, № 6. – P. 501-505.

348. Adhikari N. K. Pharmacologic therapies for adults with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome / N. K. Adhikari, K. E. Burns, M. O. Meade // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2004. – Vol. 18, № 4. – CD004477.

349. Шулутко Б. И. Стандарты диагностики и лечения внутренних болезней / Б. И. Шулутко, С. В. Макаренко. – СПб. : Элби, 2007. – 700 с.

350. Авдеев С. Н. Использование высоких доз Флуимуцила при заболеваниях легких / С. Н. Авдеев // *Атмосфера. Пульмонология и*

аллергология. – 2008. – № 1. – С. 29-34.

351. Evidence-based medicine in the therapy of acute respiratory distress syndrome / R. Kopp, R. Kuhlen, M. Max, R. Rossaint // *Intensive Care Med.* – 2002. – Vol. 28, № 3. – P. 244-255.

352. Ware L. B. Pathophysiology of acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome / L. B. Ware // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* – 2006. – Vol. 27, № 4. – P. 337-349.

353. Injury and repair in lung and airways / D. W. Shimabukuro, T. Sawa, M. A. Gropper // *Crit Care Med.* – 2003. – Vol. 31, Suppl. 8. – P. 524-531.

354. Интегральная реография тела как метод оценки состояния систем кровообращения при хирургических заболеваниях / И. С. Колесников, М. И. Лыткин, М. И. Тищенко [и др.] // *Вести хирургии.* – 1981. – № 1. – С. 9-12.

355. Олексенко І. М. Порівняльний аналіз показників центральної гемодинаміки ц спортсменів-дзюдоїстів / І. М. Олексенко // *Медична інформатика та інженерія.* – 2011. – № 3. – С. 63-70.

356. Травматическая болезнь и ее осложнения / С. А. Селезнев, С. Ф. Багненко, Ю. Б. Шапот, А. А. Курыгин. – СПб. : Политехника, 2004. – 414 с.

357. Гарбузова В. Ю. Вивчення інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів у стінках кровоносних судин у динаміці розвитку гіпервітамінозу D / В. Ю. Гарбузова, О. А. Обухова // *Вісник проблем біології і медицини.* – 2010. – Вип. 2 – С. 63-67.

358. Goldhaber Y. Metabolism in normal and ischemic myocardium / Y. Goldhaber. – 2-nd ed. – New York : Acad. Press, 1997. – P. 629-638.

359. Капелько В. И. Эволюция концепций и метаболическая основа ишемической дисфункции миокарда / В. И. Капелько // *Кардиология.* – 2005. – Т. 32, № 9. – С. 55-61.

360. Nitric oxide and nitrotyrosine in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome / C. Sittipunt, K. P. Steinberg, J. T. Ruzinski [et

al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 163, № 2. – P. 503-510.

361. Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis / S. Sarban, A. Kocyigit, M. Yazar, U. E. Isikan // *Clin Biochem.* – 2005. – Vol. 38, № 11. – P. 981-986.

362. Барабой В. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / В. А. Барабой, Д. А. Сутковой; под ред. Ю. А. Зозули. – К. : Наукова думка, 1997. – 420 с.

363. Манько В. Роль SH-груп у функціонуванні Na^+ - Ca^{2+} -обмінника секреторних клітин слинних залоз личинки / В. Манько О. Ларіна // *Вісник львівського ун-ту. Сер. Біологічна.* – 2002. – Вип. 31. – С. 203-211

364. Ясінський Р. М. Дослідження активності каталази та стану деяких складових тіол-дисульфідної системи при ВІЛ/СНІД-асоційованому туберкульозі / Р. М. Ясінський // *Запорозький медичинський журнал.* – 2011. – Т. 13, № 4 – С. 150-152

365. Коржов В. И. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты / В. И. Коржов, В. Н. Жадан, М. В. Коржов // *Журнал АМН України.* – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 3-19.

366. Bakera C. S. Measurement of Ceruloplasmin in the Lungs of Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome: Is Plasma or Local Production the Major Source? / C. S. Bakera, T. W. Evansb, P. L. Haslama // *Respiration.* – 2000. – Vol. 67, № 5. – P. 533-538.

367. Bistran B. R. Supplementation in Acute Lung Injury / B. R. Bistran. – *JAMA.* – 2012. – Vol. 307, № 2. – P. 144-145.

368. Коржов В. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты / В. И. Коржов, В. Н. Жадан, М. В. Коржов // *Журнал АМН України.* – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 3-19.

369. Соколик В. В. Протекторный эффект восстановленного глутатиона в условиях оксидативного стресса / В. В. Соколик, П. А. Кошман // *Вісник проблем біології і медицини.* – 2001. – № 4. – С. 26-29.

370. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях : обзор литературы / Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев, С. В. Павлов [и др.] // Современные проблемы токсикологии. – 2005. – № 3. – С. 20-26.

371. Oxidant-Antioxidant Balance in Acute Lung Injury / J. D. Lang, P. J. McArdle, P. J. O'Reilly, S. Matalon // Chest December. – 2002. – Vol. 122, № 6, Suppl 3. – P. 14S-32S

372. Зенков Н. К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н. К. Зенков, В. З. Лапкин, Е. Б. Меньщикова. – М. : Наука, Интерпериодика, 2001. – 343 с.

373. Antioxidant Attenuates Acute Lung Injury After Cardiopulmonary Bypass in Rats / L.-Z. Wang, S. T. Li, Y. T. Wang, Z. P. Wang // Asian Cardiovasc. Thorac. Ann. – 2007. – Vol. 15, № 1. – P. 2-8.

374. Концевая С. Ю. Влияние лигфола на содержание меди и церулоплазмينا в крови лошадей / С. Ю. Концевая, М. А. Дерхо // Ветеринария. – 2007. – № 7. – С. 51-53.

375. Медведский М. А. Церулоплазмин: влияние на функции нейтрофилов, пролиферацию лимфоцитов и продукцию цитокинов мононуклеарами крови человека *in vitro* / М. А. Медведский, Е. Т. Захарова, М. М. Шавловский // Мед. иммунол. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 128-129.

376. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // Лабораторное дело. – 1991. – № 10. – С. 9-13.

377. Нагоев Б. С. Состояние системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у больных ВИЧ-инфекцией / Б. С. Нагоев, Ж. Х. Сабанчиева // Терапевтический архив. – 2007. – № 12. – С. 70-72.

378. Enteral Omega-3 Fatty Acid, ν -Linolenic Acid, and Antioxidant Supplementation in Acute Lung Injury / T. W. Rice, A. P. Wheeler, B. T. Thompson [et all.] // JAMA. – 2011. – Vol. 306, № 14. – P. 1574-1581.

379. Буряк О. Г. Значення пероксидного окиснення білків при

дихальних розладах у новонароджених / О. Г. Буряк, Ю. Б. Ященко // Здоров'є ребенка. – 2009 – № 4. – С. 106-108.

380. 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. – С. 16-20.

381. Марущак М. І. Нітроксергічні аспекти патогенезу гострого ураження легень в експерименті / М. І. Марущак // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2011. – № 3. – С. 82-86.

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

383. 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 : наук.-практ. конф. молодих вчених, присв. 150-річчю заснув. Харківського медичного товариства, 30 лист. 2011 р. : матеріали конф. – Харків, 2011. – С. 68-69.

384. 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" : науч.-практ. конф. посв. 50-летию каф. фтизиопульмонологии, Гродно, 8 декабря 2011 г. : сб. статей. – Минск : Белпринт, 2011. – С. 46.

385. 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.

386. 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, наук.–практ. конф. з міжнародною участю, 19–20 травня 2011 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2011. – С. 37-38.

387. Гудима А. А. Дослідження процесів вільнорадикального окиснення при гострому ураженні легень / А. А. Гудима, М. І. Марущак, І. Я. Криницька // Молодь – медицині майбутнього : міжнар. наук. конф. студ. та молодих вчених, Одеса, 28–29 квітня 2011р. : матеріали конф. – Одеса, 2011. – С. 54.

388. 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 конф. – Вінниця, 2011. – С. 104.

389. Карякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений : обзор литературы / Е. В. Карякина, С. В. Белова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3-8.

390. Кассиль В. Л. Острый респираторный дистресс-синдром в свете современных представлений / В. Л. Кассиль, Е. С. Золотокрылина // Вестник интенсивной терапии. – 2000. – № 4. – С. 3-7.

391. Копытова Т. В. Молекулы средней массы как субстрат эндогенной интоксикации при тяжелых дерматозах / Т. В. Копытова // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 9. – С. 7-10.

392. Андрейчин С. М. Сучасні уявлення про метаболічну ендогенну інтоксикацію / С. М. Андрейчин, Т. О. Голомаша // Інфекційні хвороби. – 2012. – № 1. – С. 84-88.

393. Волчегорский И. А. Влияние "средних молекул", выделенных из плазмы крови интактных и обожженных животных, на клеточный состав культур эритробластических островков костного мозга / И. А. Волчегорский,

Н. В. Тишевская, Д. А. Кузнецов // Вестник РАМН. – 2002. – № 2. – С. 30-36.

394. Лабораторная оценка тяжести аутоиммунного эндотоксикоза при беременности, осложненной гестозом / Л. А. Пестряева, Л. Н. Юрченко, Е. А. Шипицына [и др.] // Клин. лабор. диагн. – 2000. – № 10. – С. 7.

395. CD4+T lymphocyte depletion attenuates lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor secretion by alveolar macrophages in the mouse. / N. B. D'Souza, F. J. Mandujano, S. Nelson [et al.] // Lymphokine Cytokine Res. – 1994. – Vol. 13, № 6. – P. 359-366.

396. Critical role of IL-17RA in immunopathology of influenza infection / C. R. Crowe, K. Chen, D. A. Pociask [et al.] // J. Immunol. – 2009. – Vol. 183, № 8. – P. 5301–5310.

397. Матвеев С. Б. Оценка эндогенной интоксикации по показателям среднемолекулярных пептидов при неотложных состояниях / С. Б. Матвеев, Н. В. Федорова, М. А. Годков // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 5. – С. 16-18.

398. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия в патологии / А. А. Иванов, О. П. Гладких, А. В. Кузнецова, Т. И. Данилова // Молекулярная медицина. – 2005. – № 2. – С. 16-21.

399. High levels of interleukin-8 in the blood and alveolar spaces of patients with pneumonia and adult respiratory distress syndrome / S. Chollet-Martin, P. Montravers, C. Gibert [et al.] // Infect. Immun. – 1993. – Vol. 6, № 11. – P. 4553-4559.

400. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time / G. U. Meduri, S. Headley, G. Kohler [et al.] // Chest. – 1995. – Vol. 107, № 4. – P. 1062-1073.

401. Кубышкин А. В. Эластолитическая активность бронхоальвеолярного лаважа при моделировании воспалительного процесса в легких / А. В. Кубышкин, И. И. Фомочкина // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, № 1.– С. 89-95.

402. Interleukin-1beta causes acute lung injury via alphavbeta5 and alphavbeta6 integrin-dependent mechanisms / M. T. Ganter, J. Roux, B. Miyazawa [et al.] // *Circ. Res.* – 2008. – Vol. 102, № 7. – P. 804-812.

403. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков [и др.]. – М. : Слово, 2006. – 556 с.

404. Reactive species and pulmonary edema / K. E. Ples, W. Song, D. W. Miller [et al.] // *Expert. Rev. Respir. Med.* – 2009. – Vol. 3, № 5. – P. 487-496.

405. Kharitonov S. A. Clinical aspects of exhaled nitric oxide / S. A. Kharitonov, P. J. Barnes // *Eur. Respir. J.* – 2000. – Vol. 16, № 4. – P. 781-792.

406. Марущак М. И. Роль интерлейкина-8 в развитии экспериментального острого поражения легких / М. И. Марущак, Н. Б. Вываль // *Актуальные вопросы медицинской науки : Всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. участием посв. 70-летию проф. А. А. Чумакова : сб. науч. работ – Ярославль : Индиго, 2012 . – С. 34.*

407. 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. – С. 216.

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

409. 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.

410. 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.

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

412. Марущак М. І. Циркуючі імунні комплекси при експериментальному гострому ураженні легень / М. І. Марущак, Л. А. Гришук, М. Б. Виваль // Імунопатологія при респіраторних захворюваннях : II науковий симпозіум : матеріали симп. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2011. – С. 26.

413. Марущак М. І. Роль ендотоксикозу у розвитку гострого ураження легень / М. І. Марущак // XVI Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених : 23-25 квіт. 2012 р. : матеріали конгресу. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2012. – С. 192.

414. Меньщикова Е. Б. Окислительный стресс / Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков // Прооксиданты и антиоксиданты. – М. : Слово, 2006. – 556 с.

415. Apoptosis of neutrophils / N. A. Maianski, A. N. Maianski, T. W. Kuijpers, D. Roos // Acta Haematology. – 2004. – Vol. 111, № 1–2. – P. 56-66.

416. Tiwari B. S. Oxidative stress increased respiration and generation of reactive oxygen species, resulting in ATP depletion, opening of mitochondrial permeability transition, and programmed cell death / B. S. Tiwari, B. Belenghi, A. Levine // Plant Physiology. – 2002. – Vol. 128, № 4. – P. 1271-1281.

417. Куликов В. Ю. Роль окислительного стресса в регуляции метаболической активности внеклеточного матрикса соединительной ткани : обзор / В. Ю. Куликов // Медицина и образование в Сибири. – 2009. – № 4. – С. 47-58.

418. The specific free radical scavenger edaravone suppresses bleomycin-induced acute pulmonary injury in rabbits / T. Asai, Y. Ohno, S. Minatoguchi [et al.] // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2007. – Vol. 34, № 1–2. – P. 22-26.

419. De Dooy J. J. The role of inflammation in the development of chronic

lung disease in neonates / J. J. De Dooy, L. M. Mahieu, H. P. Van Bever // *Eur. J. Pediatr.* – 2001. – Vol. 160, № 8 – P. 457-463.

420. Mittal N. Exogenous surfactant prevents the mitochondrial depolarization and changes in calcium homeostasis due to oxidative stress that leads to apoptosis in experimental lung injury / N. Mittal, S. N. Sanyal // *ПОАВЖ.* – 2012. – Vol. 1. – P. 3-10.

421. Пасечник А. В. Апоптоз нейтрофилов как параметр воспалительной реакции при патологии / А. В. Пасечник, В. А. Фролов // *Вестник РУДН, Сер. Медицина.* – 2004. – Т. 25, № 1. – С. 103.

422. Потапнев М. П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами / М. П. Потапнев // *Иммунология* – 2002. – № 4. – С. 237-243.

423. Белецкий И. П. Пути передачи цитотоксического сигнала рецепторами семейства TNF-Rs : обзор / И. П. Белецкий, А. Б. Мошникова, О. В. Прусакова // *Биохимия* – 2002. – Т. 67, Вып. 3. – С. 343-353.

424. Kantari C. The role of neutrophils and monocytes in innate immunity / C. Kantari, M. Pederzoli-Ribeil, V. Witko-Sarsat // *Contrib. Microbiol.* – 2008. – Vol. 15. – P. 118-146.

425. Sirisinha S. Insight into the mechanisms regulating immune homeostasis in health and disease / S. Sirisinha, A. Pac // *J. Allergy Immunol.* – 2011. – Vol. 29, № 1. – P. 1-14.

426. Novel Role for Mitochondria: Protein Kinase C θ -Dependent Oxidative Signaling Organelles in Activation-Induced T-Cell Death // M. Kamiński, M. Kießling, D. Süß [et all.] // *Mol. Cell. Biol.* – 2007. – Vol. 27, № 10. – P. 3625-3639.

427. Октябрьский О. Н. Редокс-регуляция клеточных функций / О. Н. Октябрьский, Г. В. Смирнова // *Биохимия.* – 2007. – № 2. – С. 158–174.

428. Strasser A. Apoptosis signaling / A. Strasser, L. O'Connor, V. M. Dixit // *Annu. Rev. Biochem.* – 2000. – Vol. 69. – P. 217-245.

429. Kam P. C. Apoptosis: mechanisms and clinical implications /

P. C. Kam, N. I. Ferch // *Anaesthesia* – 2000. – Vol. 55, № 11. – P. 1081-1093.

430. Kantari C. The role of neutrophils and monocytes in innate immunity / C. Kantari, M. Pederzoli-Ribeil, V. Witko-Sarsat // *Contrib. Microbiol.* – 2008. – Vol. 15. – P. 118-146.

431. Barnes P. J. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms / P. J. Barnes, S. D. Shapiro, R. A. Pauwels // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 22, № 4. – P. 672-688.

432. Manganese superoxide dismutase negatively regulates the induction of apoptosis by 5-fluorouracil, peplomycin and gamma-rays in squamous cell carcinoma cells / E. Ueta, K. Yoneda, T. Yamamoto [et al.] // *Jpn. J. Cancer Res.* – 1999. – Vol. 90, № 5. – P. 555-564.

433. Звягина Т. В. Клиническое значение изменений метаболизма оксида азота в пульмонологии / Т. В. Звягина, Т. В. Аникеева, Т. М. Белоконь // *Український пульмонологічний журнал.* – 2002. – № 1. – С. 66-68.

434. Волков И. К. Антиоксидантная терапия при хронических заболеваниях легких у детей / И. К. Волков // *Педиатрия (приложение к журналу “Consilium Medicum”).* – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 43-44.

435. Мещишен І. Ф. Основи обміну речовин та енергії / І. Ф. Мещишен, В. П. Пішак, Н. П. Григор'єва. – Чернівці : Медуніверситет, 2005. – 187 с.

436. Ades P. A. Aerobic capacity in patients entering cardiac rehabilitation / P. A. Ades, P. D. Savage, C. A. Brawner // *Circulation.* – 2006. – Vol. 113, № 23. – P. 2706-2712.

437. Antioxidant activity and bioactive constituents of the aerial parts of *harpagophytum procumbens* plants / M. I. Georgiev, K. I. Alipieva, P. Denev // *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* – 2010. – Vol. 24, № 2. – P. 438-443.

438. Circu M. L Intestinal redox biology and oxidative stress / M. L. Circu, T. Y. Aw // *Semin. Cell. Dev. Biol.* – 2012. – Vol. 23, № 7. – P. 729–737.

439. 04 Бра М. Митохондрии в запрограммированной гибели клетки: различные механизмы гибели / М. Бра, Б. Квиван, С. Сузин // Биохимия. – 2005. – Т. 70, Вып. 2. – С. 284-293.

440. Mitochondrial redox signaling: interaction of mitochondrial reactive oxygen species with other sources of oxidative stress [Електронний ресурс] / E. Schulz, P. Wenzel, T. Münzel, A. Daiber // Antioxid. Redox Signal. – 2012. – Режим доступу до журн. : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22657349>.

441. Free radical biology of the cardiovascular system / A. F. Chen, D. D. Chen, A. Daiber [et al.] // Clin. Sci. (Lond). – 2012. – Vol. 123, № 2. – P. 73-91.

442. Circu M. L. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis / M. L. Circu, T. Y. Aw. // Free Radic. Biol. Med. – 2010. – Vol. 48, № 6. – P. 749-762.

443. Gattinoni L. Assessing gas exchange in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome: diagnostic techniques and prognostic relevance / L. Gattinoni, E. Carless, M. Cresson // Curr. Opin. Crit. Care. – 2011. – Vol. 17, № 1. – P. 18-23.

444. Rubenfeld G. D. Epidemiology and outcomes of acute lung injury / G. D. Rubenfeld, M. S. Herridge // Chest. – 2007. – Vol. 131, № 2. – P. 554-562.

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

446. 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.

447. 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. – С. 104-108.

448. 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. Сер. Медицина. – 2012. – Вип. 1 (43). – С. 9-12.

449. 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.

450. 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. – № 3. – С. 17-21.

451. 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. – С. 16-21.

452. 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.

453. 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 : Всеукр. наук.-практ. конф., присв. дню науки, 17 трав. 2012 р. : матеріали конф. – Харків, 2012. – С. 102-103.

454. 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 науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, 19–20 апр. 2012 г. : тез. докл. – Владивосток : Медицина ДВ,

2012. – С. 102.у

455. Марущак М. Клітинний склад крові та бронхоальвеолярного змив 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.

456. 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 Intern. Medical Congr. for Students and Young Doctors, May 17-19, 2012, Chisinau, Rep. of Moldova : Abstract Book. – Ch. : S. n., 2012 (Tipogr.-Sirius). – P. 15-16.

457. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 2002. – 240 с.

458. Слука Б. А. Закономерности системной организации легких / Б. А. Слука // Морфология. – 2002 – Т. 121, № 2–3. – С. 145.

459. Доброродній А. В. Морфологічні та морфометричні зміни в легенях при гострому респіраторному дистрес-синдромі в експерименті / А. В. Доброродній // Клін. та експерим. патологія. – 2011. – № 3. – С. 76-79.

460. Capelozzi V. L. What have anatomic and pathologic studies taught us about acute lung injury and acute respiratory distress syndrome? / V. L. Capelozzi // Curr. Opin. Crit. Care. – 2008. – Vol. 14, № 1. – P. 56-63.

461. Морфометрические критерии обратимости дисплазии бронхиального эпителия II степени при различных видах лечения / О. В. Панкова, В. М. Перельмутер, О. В. Черемисина // Сибирский онкологический журнал. – 2005. – № 3. – С. 44-47.

462. Мухина Н. Н. Морфометрическая характеристика и строение легких человека в пренатальном периоде развития / Н. Н. Мухина // Клиническая анатомия и экспериментальная хирургия. – 2003. – № 3. – С. 177-184.

463. Patients with ARDS show improvement but not normalisation of alveolar surface activity with surfactant treatment: putative role of neutral lipids /

P. Markart, C. Ruppert, M. Wygrecka // *Thorax*. – 2007. – Vol. 62, № 7. – P. 588-594.

464. 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.

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

466. 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.

467. Марущак М. І. Ультраструктурні 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.

468. Марущак М. І. Морфометричні аспекти структурно-функціональних змін легень за умов дії апоптоз-опосередкованих факторів їх гострого ураження / М. І. Марущак, М. Я. Фурдела // *Український морфологічний альманах*. – 2011. – Т. 0, № 3. – С. 53-56.

469. 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 : наук.-практ. конф. студ., молодих вчених, лікарів та викладачів, присв. 20-річчю заснування медичного університету, 10–12 квітня, 2012 р. матеріали конф.* – Суми, 2012. – С. 49.

470. 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.

471. Ziliene V. Etiology and pathogenesis of acute respiratory failure / V. Ziliene, A. J. Kondrotas, E. Kevelaitis // *Medicina*. – 2004. – Vol. 40, № 3. – P. 286-294.

472. Мороз В. В. Принципы диагностики ранних проявлений острого повреждения легких / В. В. Мороз, А. М. Голубев // *Общая реаниматол.* – 2006. – № 4. – С. 5-7.

473. Глумчер Ф. С. Острый респираторный дистресс-синдром: определение, патогенез, терапия / Ф. С. Глумчер // *Мистецтво лікування*. – 2004. – № 9. – С. 12-17.

474. Mendelson C. L. The aspiration of stomach contents into the lungs during obstetric anesthesia / C. L. Mendelson // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1946. – Vol. 52. – P. 191-205.

475. Inhibition of acid-induced lung injury by hyperosmolar sucrose in rats / Z. Safdar, M. Yiming, G. Grunig, J. Bhattacharya // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 172, № 8. – P. 1002-1007.

476. Luk'ianova L. D. The role of the bioenergetic disorders in pathogenesis of hypoxia / L. D. Luk'ianova // *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* – 2004. – Vol. 2. – P. 2-11.

477. Imtiyaz H. Z. Hypoxia – inducible factors as essential regulators of inflammation / H. Z. Imtiyaz, M. C. Simon // *Curr. Top Microbiol. Immunol.* – 2010. – Vol. 345. – P. 105-120.

478. Воинов В. А. Острый респираторный дистресс синдром / В. А. Воинов, С. В. Орлов, К. С. Карчевский // *Біль, знеболювання й інтенсивна терапія*. – 2007. – № 1-2. – С. 13-16.

479. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент / В. В. Ляхович, В. А. Вавилин, Н. К. Зенков [и др.] // *Биохимия*. – 2006. – Т. 71, № 9. – С. 1183-1197.

480. Окислительный стресс при хронической сердечной недостаточности и сахарном диабете типа 2 / Н. Е. Арзамасцева,

В. З. Ланкин, А. К. Тихадзе [и др.] // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии : XV Междунар. конф. и дискус. научн. клуба : материалы конф. – Ялта, 2007. – С. 413-415.

481. Protein nitration, metabolites of reactive nitrogen species, and inflammation in lung allograftism / J. A. de Andrade, J. P. Crow, L. Viera [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 161, № 6. – P. 2035-2042.

482. Hiwari B. S. Oxidative stress increased respiration and generation of reactive oxygen species, resulting in ATP depletion, opening of mitochondrial permeability transition, and programmed cell death / B. S. Hiwari, B. Belenghi, A. Levine // *Plant Physiol.* – 2002. – Vol. 128, № 4. – P. 1271-1281.

483. Melley D. D. Redox regulation of neutrophil apoptosis and the systemic inflammatory response syndrome / D. D. Melley, T. W. Evans, G. J. Quinlan // *Clin. Sci.* – 2005. – Vol. 108, № 5. – P. 413-424.

484. Antioxidant activity of piperlactam S: prevention of copper induced LDL peroxidation and amelioration of free radical-induced oxidative stress of endothelial cells / J. Y. Tsai, C. J. Chou, C. F. Chen, W. F. Chiou // *Planta Med.* – 2003. – Vol. 69, № 1. – P. 3-8.

485. Webb J. D. Hypoxia, hypoxia-inducible factors (HIF), HIF hydroxylases and oxygen sensing / J. D. Webb, M. L. Coleman, C. W. Pugh // *Cell Mol. Life Sci.* – 2009. – Vol. 66, № 12. – P. 3539-3554.

486. Активність процесів перекисного окислення ліпідів та окисної модифікації протеїнів у щурів різного віку за умов дії переривчастої гіпобаричної гіпоксії / О. К. Кульчицький, Р. І. Потапенко, С. М. Новикова, М. К. Бурчинська / *Пробл. старения и долголетия.* – 2011. – № 3. – С. 291-301.

487. Huss J. M. Mitochondrial energy metabolism in heart failure: A question of balance / J. M. Huss, D. P. Kelly // *J. Clin. Investig.* – 2005. – Vol. 115, № 3. – P. 547-555.

488. Рябов Г. А. Окислительная модификация белков плазмы крови у больных в критических состояниях / Г. А. Рябов, Ю. М. Азизов,

С. И. Дорохов // Анестезиол. и реаниматол. – 2000. – № 2. – С. 72-75.

489. Показники окисної модифікації білків у конденсаті видихуваного повітря під час різних патологічних станів у школярів / О. К. Колоскова, Т. М. Воротняк, В. В. Білоус [та ін.] // Галицький лікарський вісник. – 2008. – Т. 5, № 3. – С. 46-48.

490. Карімов І. З. Окислительная модификация белков и перекисное окисление липидов в развитии метаболической интоксикации при патологии / І. З. Карімов // Лабор. діагностика. – 2005. – № 1. – С. 7-13.

491. Беленичев И. Ф. Роль окислительной модификации белков в когнитивно–мнестических нарушениях у крыс, подвергшихся острому иммобилизационному стрессу / И. Ф. Беленичев, С. В. Павлов // Запорожский медицинский журнал. – 2005. – № 3 (30). – С. 125.

492. Лушак В. І. Показники оксидативного стресу. 1. Тиобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків / В. І. Лушак, Т. В. Багнюкова, О. В. Лушак // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 76, № 6. – С. 136-141.

493. Acid aspiration-induced lung inflammation and injury are exacerbated in NADPH oxidase-deficient mice / В. Н. Segal, В. А. Davidson, А. D. Hutson [et al.] // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2007. – Vol. 292, № 3. – P. 760-768.

494. Nitric oxide and nitrotyrosine in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome / С. Sittipunt, Steinberg K.P. , Ruzinski J.T. et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2001. – Vol. 163. – P. 503-510.

495. Huffmyer J. L. Respiratory dysfunction and pulmonary disease in cirrhosis and other hepatic disorders / J. L. Huffmyer, E. C. Nemergut // Respir. Care. – 2007. – Vol. 52. – P. 1030-1036.

496. Protein nitration, metabolites of reactive nitrogen species, and inflammation in lung allografts / J. A. de Andrade , J. P. Crow, L. Viera [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2000. – Vol. 161. – P. 2035-2042.

497. Мхітарян Л. С. Окислювальний стрес: механізми розвитку і роль в

патології / Л. С. Мхітарян, О. Б. Кучменко. – К., 2004. – 223 с.

498. Жилюк В. І. Стан процесів вільнорадикального окислення в утвореннях головного мозку у алоксан–діабетних щурів за умов застосування пірацетаму та прамірацетаму / В. І. Жилюк / Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2009. – № 5(12). – С. 47-51.

499. Hepatopulmonary syndrome — past to present / J. Varghese, H. Pias-basha, R. Dhanasekaran [et al.] // Ann. Hepatol. – 2007. – Vol. 6. – P. 135-142.

500. Sakamoto T. A membrane protease regulates energy production in macrophages by activating hypoxia-inducible factor-1 via a non-proteolytic mechanism / T. Sakamoto, M. Seiki // J. Biol. Chem. – 2010. – Vol. 285, № 39. – P. 29951-29964.

501. Modulating GSH synthesis using glutamate cysteine ligase transgenic and gene-targeted mice / D. Botta, C. C. White, P. Vliet-Gregg [et al.] // Drug Metab. Rev. – 2008. – Vol. 40, № 3. – P. 465-477.

502. Lee S. J. Astaxanthin inhibits nitric oxide production and inflammatory gene expression by suppressing NF-kappa B activation / S. J. Lee, S. K. Bai, K. S. Lee // Mol. Cells. – 2003. – Vol. 16, № 1. – P. 97-105.

503. Бородин Е. А. Биохимия эндотоксикоза. Механизмы развития и оценка степени тяжести при воспалительных заболеваниях легких / Е. А. Бородин, Е.В. Егоршина, В. П. Самсонов. – Благовещенск : АГМА, 2003. – 129 с.

504. Дисбаланс перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты и уровень средних молекул у детей, больных хроническим гломерулонефритом / Е. А. Вельдер, Н. И. Аверьянова, В. М. Аксёнова [и др.] // Матер. науч. сессии Перм. гос. мед. академии. – Пермь, 2000. – С. 23-24.

505. Заяць Л. М. Вплив аерополітантів на ультраструктуру альвеолярних макрофагів легень / Л. М. Заяць // Вісник проблем біології і медицини. – 2003. – Вип. 3. – С. 48-49.

506. Карякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный

показатель метаболических нарушений (обзор литературы) / Е. В. Карякина, С. В. Белова // Клин. лаб. диагн. – 2004. – № 3. – С. 3-8.

507. Юдакова О. В. Интенсивность ПОЛ и АОА, уровень молекул средней массы как показателя эндогенной интоксикации при распространённом перитоните / О. В. Юдакова, Е. В. Григорьев // Клин. лаб. диагн. – 2004. – Вып. 10. – С. 20-22.

508. Морфофункціональні зміни в легенях лабораторних тварин у патогенезі експериментального хронічного бронхіту токсичної та пилової етіології / М. Г. Карнаух, В. Д. Крушевський, С. П. Луговський, М. А. Комаров // Гігієна населених місць. – 2003. – Вип. 41. – С. 53-58.

509. Казмірчук В. Є. Клінічна імунологія і алергологія / В. Є. Казмірчук, Л. В. Ковальчук. – Вінниця : Нова книга – 2006. – С. 267-275.

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

511. Acute lung injury in rat caused by immunoglobulin A immune complexes / K. J. Johnson, B. S. Wilson, G. O. Till, P. A. Ward // J. Clin. Invest. – 1984. – Vol. 74, № 2. – P. 358-369.

512. Lama V. N. Resting and exercise physiology in interstitial lung diseases / V. N. Lama, F. J. Martinez // Clin. Chest. Med. – 2004. – Vol. 25, № 3. – P. 435-453.

513. Салтикова Г. В. Значення системи місцевого імунітету для пацієнтів, які часто та тривалий час хворіють на респіраторні інфекції / Г. В. Салтикова // Therapia. – 2008. – № 2. – С. 33-34.

514. Крушевський В. Д. Співвідношення вмісту та розміру циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові при експериментальному токсичному, пиловому та токсико-пиловому бронхіті у щурів / В. Д. Крушевський, В. А. Стежка // Український журнал з проблем

медицини праці. – 2009. – № 1 (17). – С. 65-71.

515. Котович И. Л. Диагностическое значение исследования клеток, цитокинов и компонентов сурфактанта легких в бронхоальвеолярной лаважной жидкости / И. Л. Котович, А. Д. Таганович // Медицинские новости. – 2000. – № 9. – С. 18-22.

516. Deng J. C. Growth Factors and Cytokines in Acute Lung Injury / J. C. Deng, T. J. Standiford // Compr. Physiol. – 2011. – Vol. 1. – P. 81-104.

517. Antiinflammatory effects of matrine in LPS-induced acute lung injury in mice / Bo Zhang, Zhong-Yang Liu, Yan-Yan Li [et al.] // European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2011. – Vol. 44, Is. 5. – P. 573-579.

518. Galectin-9 Attenuates Acute Lung Injury by Expanding CD14–Plasmacytoid Dendritic Cell–like Macrophages / K. Kojima, T. Arikawa, N. Saita [et al.] // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2011. – Vol. 184. – P. 328-339.

519. Cytokine-mediated inflammation in acute lung injury / R. B. Goodman, J. Pugin, J. S. Lee, M. A. Matthay // Cytokine Growth Factor Rev. – 2003. – Vol. 14, № 6. – P. 523-535.

520. Alveolar Recruitment in Pulmonary and Extrapulmonary / A. W. Thille, J.-C. M. Richard, S. M. Maggiore [et al.] // Anesthesiology. – 2007. – Vol. 106. – P. 212-217.

521. Кетлинский С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев // СПб.: Фолиант, 2008. – 552 с.

522. Interleukin-8 synthesis, regulation, and steroidogenic role in H295R human adrenocortical cells / D. G. Romero, G. R. Vergara, Zheng Zhu [et al.] // Endocrinology. – 2006. – Vol. 147, № 2. – P. 891-898.

523. Кубышкин А. В. Эластолитическая активность бронхоальвеолярного лаважа при моделировании воспалительного процесса в легких / А. В. Кубышкин, И. И. Фомочкина // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, № 1. – С. 89-95.

524. The role of cytokines in the development of the pneumonia after aorto-

coronary bypass at patients with ischemic heart disease / E. V. Markelova, E. P. Turmova, A. A. Silaev [et al.] // Pacific Medical Journal. – 2006. – № 2. – P. 35-37.

525. Acute Respiratory Distress Syndrome Neutrophils are major contributors to intraparenchymal lung IL-1b expression after hemorrhage and endotoxemia / M. V. Parsey, R. M. Tuder, E. Abraham // The Journal of Immunology. – 1998. – Vol. 160. – P. 1007-1013.

526. Padmam P. Chemokines in acute respiratory distress syndrome / P. Padmam, M. Shabbir, B. Madhav // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2005. – № 288. – P. 3–15.

527. Денисенко С. В. Изменения митохондриального окисления и фосфорилирования в семенниках белых крыс в условиях избыточного поступления в их организм нитрата натрия / С. В. Денисенко, В. А. Костенко // Укр. биохим. журн. – 2003. – № 1. – С. 101-103.

528. Колісник Н. В. Біологія нейтрофілів, сучасний погляд. Огляд / Н. В. Колісник, Ж. С. Качанова // Вісник Запорізького національного університету. – 2009. – № 1. – С. 80-91.

529. Sequential recruitment of neutrophils into lung and bronchoalveolar lavage fluid in LPS-induced acute lung injury / J. Reutershan, A. Basit, E. V. Galkina, K. Ley // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2005. – Vol. 289, № 5. – P. 807-815.

530. Mononuclear Phagocyte Xanthine Oxidoreductase Contributes to Cytokine-Induced Acute Lung Injury / R. M. Wright, L. A. Ginger, N. Kosila [et al.] // American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. – 2004. – Vol. 30. – P. 479-490.

531. Лю Б. Н. Кислородно-перекисная концепция апоптоза: повышение уровня аргументации и развития / Б. Н. Лю, М. Б. Лю // Успехи современной биологии. – 2005. – Т. 125, № 6. – С. 567-578.

532. Jiang X. Cytochrome *c*-mediated apoptosis / X. Jiang, X. Wang // *Annual Review of Biochemistry*. – 2004. – Vol. 73. – P. 87-106.

533. Role of Cytochrome *c* in Apoptosis: Increased Sensitivity to Tumor Necrosis Factor Alpha Is Associated with Respiratory Defects but Not with Lack of Cytochrome *c* Release / U. D. Vempati¹, F. Diaz¹, A. Barrientos [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* – 2007. – Vol. 27, № 5. – P. 1771-1783.

534. Характеристика змін проникності мембран мітохондрій з тканини папілярних карцином щитоподібної залози та з її тканини за інвазії пухлинних клітин / Т. М. Мишуніна, О. В. Калініченко, М. Д. Тронько, Л. Ю. Зурнаджи // *Журн. АМН України*. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 5-22.

535. The adenine nucleotide translocator in apoptosis / A. Belzacq, H. Vieira, G. Kroemer, C. Brenner // *Biochimie*. – 2002. – Vol. 84, № 2–3. – P. 167-176.

536. Duchen M. R. Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death / M. R. Duchen // *J. Physiol.* – 2000. – Vol. 529. – P. 57-68.

537. Бережков Н. В. Апоптоз — абортное деление клетки / Н. В. Бережков // *Сборник научно-практических работ Московского лечебно-санаторного объединения*. – М., 2003. – С. 156.

538. Modulation of neutrophil apoptosis by G-CSF and GM-CSF during the course of the acute respiratory distress syndrome (ARDS) / G. Matute-Bello, W. C. Liles, F.I. Radella [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 28, № 1. – P. 1-7.

539. Van Engeland M. Annexin V-affinity assay: a review on an apoptosis detection system based on phosphatidylserine exposure / M. V. Engeland, L. J. W. Nieland, F. C. Ramaekers // *Cytometry*. – 1998. – Vol. 31. – P. 1-9.

540. Октябрьский О. Н. Редокс-регуляция клеточных функций / О. Н. Октябрьский, Г. В. Смирнова // *Биохимия*. – 2007. – Т. 72, № 2. – С. 158-174.

541. Kantari C. The role of neutrophils and monocytes in innate immunity / C. Kantari, M. Pederzoli-Ribeil, V. Witko-Sarsat // *Contrib. Microbiol.* – 2008. – Vol. 15. – P. 118-146.

542. Пасечник А.В. Апоптоз нейтрофилов как параметр воспалительной реакции при патологии различного генеза / А. В. Пасечник, В. А. Фролов, Н. Г. Гвоздь // Вестник РУДН, серия Медицина. – 2004. – № 1 (25). – С. 103.

543. Antioxidant activity of piperlactam S: prevention of copper induced LDL peroxidation and amelioration of free radical-induced oxidative stress of endothelial cells / J. Y. Tsai, C. J. Chou, C. F. Chen, W. F. Chiou // *Planta Med.* – 2003. – Vol. 69, № 1. – P. 3-8.

544. Cross A. The dual effects of TNF- α on neutrophil apoptosis are mediated via differential effects on expression of Mcl-1 and Bfl-1 / A. Cross, R. J. Moots, S. W. Edwards // *Blood.* – 2008. – Vol. 111, № 2. – P. 878-884.

545. Agouridakis P. The predictive role of serum and bronchoalveolar lavage cytokines and adhesion molecules for acute respiratory distress syndrome development and outcome / P. Agouridakis, D. Kyriakou, M. G. Alexandrakis // *Respir. Res.* – 2002. – Vol. 3. – P. 25-34.

546. Locksley R. M. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology / R. M. Locksley, N. Killeen, M. J. Lenardo // *Cell.* – 2001. – Vol. 104, № 4. – P. 487-501.

547. Tumor necrosis factor levels in serum and bronchoalveolar lavage fluid of patients with the adult respiratory distress syndrome / T. M. Hyers, S. M. Tricomi, P. A. Dettenmeier [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1991. – Vol. 144. – P. 268-271.

548. Compartmentalization of TNF receptor 1 signaling; internalized TNF receptosomes as death vesicles / W. Schneider-Brachert, V. Tchikov, J. Neumeyer [et al.] // *J. Immunity* – 2004. – Vol. 21, № 3. – P. 415-428.

549. MacEwan D. J. TNF ligand and receptors – a matter of life and death / D. J. MacEwan // *British Jour. Of Pharm.* – 2002. – Vol. 135, № 4. – P. 855–875.

550. Functional disability 5 years after acute respiratory distress syndrome / M. S. Herridge, C. M. Tansey, A. Matté [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – Vol. 364, № 14. – P. 1293-1304.

551. Потапнев М. П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами / М. П. Потапнев // Иммунология – 2002. – № 4. – С. 237-243.

552. Белецкий И. П. Пути передачи цитотоксического сигнала рецепторами семейства TNF-Rs (обзор) / И. П. Белецкий, А. Б. Мошникова, О. В. Прусакова // Биохимия. – 2002. – Т. 67, вып. 3. – С. 343-353.

553. Wajant H. Tumor necrosis factor signaling / H. Wajant, K. Pfizenmaier, P. Scheurich // Cell Death Differ. – 2003. – Vol. 10, № 1. – P. 45-65.

554. Human TNF-alpha in transgenic mice induces differential changes in redox status and glutathione-regulating enzymes / H. Glosli, K. J. Tronstad, H. Wergedal [et al.] // FASEB J. – 2002. – Vol. 16, № 11. – P. 1450-1452.

555. Мишуніна Т. М. Тронько Основні молекулярні механізми апоптозу та їх порушення при канцерогенезі щитоподібної залози (огляд літератури) / Т. М. Мишуніна, М. Д. Тронько // Журн. АМН України. – 2006. – Т. 12, № 4. – С. 611-633.

556. Райхлин Н. Т. Регуляция и проявление апоптоза в физиологических условиях и в опухолях / Н. Т. Райхлин, А. Н. Райхлин // Вопр. онкол. – 2002. – Т. 48, № 2. – С. 159-171.

557. Acute Lung Injury: Apoptosis and Signaling Mechanisms / M. Chopra, J. S. Reuben, A. C. Sharma // Experimental Biology and Medicine. – 2009. – Vol. 234, № 4. – P. 361-371.

558. Pulse oximetry saturation to fraction inspired oxygen ratio as a measure of hypoxia under general anesthesia and the influence of positive end-expiratory pressure / R. S. Tripathi, J. M. Blum, A. L. Rosenberg, K. K. Tremper // J. Crit. Care. – 2010. – Vol. 25, № 3. – P. 542-613.

559. Future research directions in acute lung injury: summary of a National Heart, Lung, and Blood Institute working group / M. G. Matthay, G. A. Zimmerman, C. Esmon [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 167, № 7. – P. 1027-1035.

560. Acute remodeling of parenchyma in pulmonary and extrapulmonary ARDS. An autopsy study of collagen elastic system fibers / E. M. Negri, C. Hoelz, C. S. V. Barbas [et al.] // *Pathol. Res. Pract.* – 2002. – Vol. 198, № 5. – P. 355-361.

561. Fein A. M. Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome in sepsis and septic shock / A. M. Fein, M. G. Calalang-Colucci // *Crit. Care Clin.* – 2000. – Vol. 16, № 2. – P. 289-317.

562. Lung injury and recovery in a murine model of unilateral acid aspiration: functional, biochemical, and morphologic characterization / M. Amigoni, G. Bellani, M. Scanziani [et al.] // *Anesthesiology.* – 2008. – Vol. 108, № 6. – P. 1037-1046.

563. Tomashefski J. T. Pulmonary pathology of acute respiratory distress syndrome / J. T. Tomashefski // *Clin. Chest Med.* – 2000. – Vol. 21, № 3. – P. 435-466.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

професор-професор
Кримського державного медичного
університету імені С.І. Георгієвського
професор Кубишкін А.В.
2012 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості перекисного окиснення ліпідів у патогенезі гострого ураження легень.

2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.

Здобувач: Марушак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:**

Гришук Л.А. Динаміка перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в щурів за умов гострого ураження легень / Л.А. Гришук, М.І. Марушак // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2011. – № 2 (05). – С. 16–20.

Моделювання гострого ураження легень за методикою G. Matute-Bello, 2008 р. в авторській модифікації, у щурів призводить до інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення, що проявляється достовірним підвищенням рівня ТБК-активних продуктів через 24 год спостереження в гомогенаті легень на 123,52 % і в сироватці крові на 232,62 % відносно контролю. Відповідно до аналізу отриманих даних можна говорити про те, що в ранній фазі гострого ураження легень (перші 2 години після ураження) показовими щодо порушень у системі перекисного окиснення ліпідів є гомогенат легень. У пізніші терміни легеневого пошкодження в якості діагностичного критерія дисбалансу про-антиоксидантної системи можна використовувати показники перекисного окиснення ліпідів у сироватці крові та гомогенаті легень, причому зміни в них відбуваються однонаправлено і співдружно.

4. **Впроваджено:** на кафедрі патологічної фізіології Кримського державного медичного університету імені С.І. Георгієвського.

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів 2 та 3 року навчання медичного та стоматологічного факультетів.

5. **Результати впровадження:** використання результатів М. І. Марушак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про перекисне окиснення ліпідів у динаміці гострого ураження легень.

6. **Термін впровадження:** 2012 р.

7. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної фізіології Кримського державного медичного університету імені С.І. Георгієвського.

8. **Зауваження, пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: *в.м.м.м.м. кафедри*

Завідувач кафедри патологічної фізіології
доктор медичних наук, професор

А.В. Кубишкін

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Харківського національного
медичного університету



Володимир В. В. Мисюк
2012 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

- Пропозиція для впровадження:** Рівень активних форм кисню нейтрофілів крові за умови гострого ураження легень.
- Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.
Здобувач: Марущак Марія Іванівна.

3. Джерело інформації:

1. Марущак М.І. Роль активних форм кисню у розвитку і прогресуванні гострого ураження легень в експерименті / М.І. Марущак // Медична хімія. – 2012. – № 1. – С. 104-109.

2. 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. – № 1 (43). – С. 9-12.

При гострому ураженні легень, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, як у крові достовірно зростає рівень активних форм кисню у міру прогресування захворювання. Так, через 24 години після моделювання HCl-індукованого гострого ураження легень рівень активних форм кисню достовірно зріс на 75,12 % стосовно даних контрольної групи ($p < 0,01$). Проводячи статистичну обробку даних, ми прийшли до висновку, що активні форми кисню у плазмі крові щурів з HCl-індукованим гострим ураженням легень практично відразу реагують з молекулами, що контактують з ними, а саме, з білками, мембранними ліпідами, причому їх високий рівень зберігається протягом перших 24 годин експерименту. Проведений корелятивний аналіз показав, що рівень активних форм кисню нейтрофілів плазми крові у щурів з модельованим гострим ураженням легень мав високий негативний корелятивний зв'язок з рівнем pH артеріальної крові у в перші 6 годин експерименту ($p < 0,05$), що свідчить про активацію вільнорадикальних процесів на фоні респіраторного ацидозу, що розвивається при даній патології.

Впроваджено: на кафедрі патологічної фізіології Харківського національного медичного університету.

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету.

4. **Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марущак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про механізми розвитку окисного стресу та його роль у патогенезі гострого ураження легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патологічної фізіології Харківського національного медичного університету.

6. **Зауваження, пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: *Ніколасва О.В.*

Завідувач кафедри патологічної фізіології
доктор медичних наук, професор

О.В. Ніколасва



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості динаміки газового складу крові та рН при гострому ураженні легень.

2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.

Здобувач: Марущак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:**

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

2. Марущак М. І. Основні показники газового складу артеріальної крові у щурів з гострим ураженням легень легень / М. І. Марущак, Г. Г. Габор , М. Б. Виваль // Регіональна наукова конференція «Актуальні питання анестезіології та інтенсивної терапії». – Тернопіль. – 19-20 травня 2011 р. – С. 37-38.

Моделиювання гострого ураження легень за методикою G. Matute-Bello, 2008 р. в авторській модифікації, у щурів призводить до порушення газового складу крові через 6 год досліду у вигляді респіраторного ацидозу, обумовленого підвищенням у крові pCO_2 та зниженням pO_2 та рН Потрібно зауважити, що ацидоз зменшує спорідненість гемоглобіну з киснем, що суттєво посилює тканинну гіпоксію. Зростання рН артеріальної крові, незначне зниження pCO_2 та підвищення pO_2 свідчать про компенсацію дихального ацидозу через 12 годин експерименту, проте через 24 год експерименту відбувається вірогідне зниження ($p < 0,001$) досліджуваних показників стосовно попередньої групи, що свідчить про наростання респіраторного ацидозу.

Впроваджено: на кафедрі медицини невідкладних станів, анестезіології та інтенсивної терапії Харківського національного медичного університету.

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету.

4. **Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марущак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про динаміку змін газового складу крові та рН при гострому ураженні легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра медицини невідкладних станів, анестезіології та інтенсивної терапії Харківського національного медичного університету.

6. **Зауваження, пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: *Хижняк А.А.*

Завідувач кафедри медицини невідкладних станів,
анестезіології та інтенсивної терапії
доктор медичних наук, професор

А.А. Хижняк

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Пропозиція для впровадження:** Роль системи оксиду азоту в розвитку гострого ураження легень.

2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.
Здобувач: Марущак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:**

1. Марущак М.І. Нітросидергічні аспекти патогенезу гострого ураження легень в експерименті / М.І. Марущак // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2011. - № 3 (05). – С. 82-86.

2. Марущак М. И. Динамика нитрит-аниона в сыворотке крови и гомогенате легких при экспериментальном остром поражении легких / М. И. Марущак // Сборник статей научно-практической конференции "Актуальные проблемы диагностики, лечения и профилактики туберкулеза в свете стратегии "Stop TB", посвященной 50-летию кафедры фтизиопульмонологии. - 8 декабря 2011 года, г. Гродно. - Минск "Белпринт", 2011. – С. 46.

Метаболіти оксиду азоту на початкових етапах гострого ураження легень виступають в якості ендогенних антиоксидантів, проте в умовах наростання окисного стресу цей взаємозв'язок втрачається, що свідчить про ймовірну трансформацію оксиду азоту і його метаболітів у цитотоксичний пероксинітрит, що проявляє прооксидантну дію. Враховуючи системне та локальне підвищення метаболітів оксиду азоту у щурів із модельованим гострим ураженням легень, можна опосередковано стверджувати про розвиток ендотеліальної легеневої дисфункції.

Впроваджено: на кафедрі фтизіатрії та пульмонології Донецького національного медичного університету.

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету.

4. **Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марущак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про роль оксиду азоту у розвитку гострого ураження легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра фтизіатрії та пульмонології Донецького національного медичного університету.

6. **Зауваження, пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: *Лепшина С.М.*

Завідувач кафедри фтизіатрії
та пульмонології, доц.

С.М. Лепшина



матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Пропозиція для впровадження:** Роль системи оксиду азоту в розвитку гострого ураження легень.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.
Здобувач: Марущак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:**

1. Марущак М.І. Нітросидергічні аспекти патогенезу гострого ураження легень в експерименті / М.І. Марущак // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2011. - № 3 (05). – С. 82-86.
2. Марущак М. И. Динамика нитрит-аниона в сыворотке крови и гомогенате легких при экспериментальном остром поражении легких / М. И. Марущак // Сборник статей научно-практической конференции "Актуальные проблемы диагностики, лечения и профилактики туберкулеза в свете стратегии "Stop TB", посвященной 50-летию кафедры фтизиопульмонологии. - 8 декабря 2011 года, г. Гродно. - Минск "Белпринт", 2011. – С. 46.

Метаболіти оксиду азоту на початкових етапах гострого ураження легень виступають в якості ендогенних антиоксидантів, проте в умовах наростання окисного стресу цей взаємозв'язок втрачається, що свідчить про ймовірну трансформацію оксиду азоту і його метаболітів у цитотоксичний пероксинітрит, що проявляє прооксидантну дію. Враховуючи системне та локальне підвищення метаболітів оксиду азоту у щурів із моделюванням гострого ураження легень, можна опосередковано стверджувати про розвиток ендотеліальної легеневої дисфункції.

Впроваджено: на кафедрі фтизіатрії та пульмонології Харківського національного медичного університету.

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету.

4. **Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марущак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про роль оксиду азоту у розвитку гострого ураження легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра фтизіатрії та пульмонології Харківського національного медичного університету.

6. **Зауваження, пропозицій:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: *Шевченко О.С.*

Завідувач кафедри фтизіатрії та пульмонології
доктор медичних наук, професор

О.С. Шевченко



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Буковинського державного
медичного університету

2012 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Пропозиція для впровадження:** Значення окремих показників перекисного окиснення ліпідів у патогенезі гострого ураження легень.

2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.

Здобувач: Марушак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:**

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

Важливим показником антиоксидантної системи при гострому ураженні легень, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти є каталаза. Через 2 год експерименту активність каталази в сироватці крові мала тенденцію до зростання, проте достовірно не відрізнялась від контролю. Через 6 год експерименту (2 фаза HCl-індукованого ГУЛ) виявлено достовірне зростання активності каталази на 16,93 % проти контролю ($p < 0,001$) та тенденцію до зниження порівняно з попередньою дослідною групою (2 год дослідю). Встановлено, що протягом 12 годин спостереження рівень даного показника коливався статистично незначимо. Кардинально інші результати отримані через 24 год, які вказують на достовірне зменшення активності каталази на 37, 62 % відносно даних через 12 год та на 23,60 % відповідно до контролю ($p < 0,001$). В гомогенаті легень відмічено наростання активності каталази з 2 год по 12 год експерименту, причому встановлено достовірне зростання активності каталази на 81 % через 6 і 12 годин спостереження ($p < 0,001$). Через 24 години дослідю відбулося достовірне зниження даного показника на 28,22 % стосовно даних через 12 год, проте активність каталази в цій групі було достовірно вища на 42,09 % результатів контролю.

Впроваджено: на кафедрі патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету.

Включено: В лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Респіраторний дистрес-синдром дорослих», «Патофізіологія зовнішнього дихання. Дихальна недостатність».

4. **Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марушак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про механізми антиоксидантного захисту при гострому ураженні легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету.

Зауваження, пропозиції: Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: *Роговий Ю.С.*

Завідувач кафедри патологічної фізіології
Буковинського державного медичного університету
доктор медичних наук, професор

Ю. С. Роговий

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Буковинського державного
медичного університету

«*Гензис*» 2012 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетична роль нейтрофільних гранулоцитів у патогенезі гострого ураження легень.

2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.

Здобувач: Марущак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:**

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. – № 3. – С. 17-21.

Моделювання гострого ураження легень за методикою G. Matute-Bello, 2008 р. в авторській модифікації, зумовлює регіонарну секвестрацію нейтрофілів в легенях, внаслідок чого в периферичній крові має місце зниження нейтрофілів, що обумовлює зниження метаболічного резерву нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові. Встановлено, що в міру прогресування патологічного процесу зменшується кількість лейкоцитів у крові, тоді як у бронхоальвеолярному змиві – зростає, в основному за рахунок нейтрофілів. Отримані результати вказують на те, що ініціація міграції нейтрофільних гранулоцитів у легені відбувається і за відсутності інфекційного агенту, тобто це є універсальна неспецифічна реакція організму на критичний патологічний процес.

Впроваджено: на кафедрі фізіатрії та пульмонології Буковинського державного медичного університету.

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету.

4. **Результати впровадження:** використання результатів М. І. Марущак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про механізми розвитку гострого ураження легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра фізіатрії та пульмонології Буковинського державного медичного університету.

6. **Зауваження, пропозиції:** Не вніслися.

Відповідальний за впровадження: *Годоріко Л.Д.*

Завідувач кафедри фізіатрії та пульмонології
Буковинського державного медичного університету
доктор медичних наук, професор

Л. Д. Годоріко



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет імені І.Я. Горбачевського»
професор Марценюк В.П.
« 7 » серпень 2012 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

- Пропозиція для впровадження:** Особливості ендогенної інтоксикації при експериментальному гострому ураженні легень.
- Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.
Здобувач: Марушак Марія Іванівна.

3. Джерело інформації:

- Марушак М. І. Особливості патогенетичних механізмів ендогенної інтоксикації та гуморального імунітету при експериментальному гострому ураженні легень / М. І. Марушак // Вісник наукових досліджень. – 2011. - № 3. – С. 108-112.
- Марушак М.І. Роль ендотоксикозу у розвитку гострого ураження легень / М. І. Марушак // XVI Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених. Матеріали конгресу, 23-25 квітня. – Тернопіль, "Укрмедкнига". – 2012. – С.192

При гострому ураженні легень, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, проведені дослідження з визначення вмісту МСМ/280 (ароматичні амінокислоти) у сироватці крові показали, що протягом 24 годин спостереження їх рівень достовірно зростав у всіх групах спостереження ($p < 0,05$) і був найвищим через добу експерименту, тобто на 68,17 % стосовно контролю. Порівнюючи отримані дані вмісту МСМ/254 і МСМ/280, можна говорити про однонаправлені зміни середньомолекулярних пептидів при різних довжинах хвилі, які характеризуються достовірним зростанням протягом 24 годин спостереження, що свідчить про наростання ендогенної інтоксикації.

Впроваджено: на кафедрі клінічної імунології, алергології та загального догляду за хворими ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету та ІНІ медсестринства.

- Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марушак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про механізми розвитку ендотоксикозу при гострому ураженні легень.
- Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра клінічної імунології, алергології та загального догляду за хворими ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Зауваження, пропозиції: Не вносилися.

Завідувач кафедри
клінічної імунології, алергології
та загального догляду за хворими
доктор медичних наук, професор

І.Я. Господарський



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет імені І.Я. Горбачевського»

професор Марценюк В.П.

«*Сервіс*» 2012 р.**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості динаміки газового складу крові та рН при гострому ураженні легень.

2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.

Здобувач: Марущак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:**

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

2. Марущак М. І. Основні показники газового складу артеріальної крові у щурів з гострим ураженням легень легень / М. І. Марущак, Г. Г. Габор , М. Б. Виваль // Регіональна наукова конференція «Актуальні питання анестезіології та інтенсивної терапії». – Тернопіль. – 19-20 травня 2011 р. – С. 37-38.

Моделювання гострого ураження легень за методикою G. Matute-Bello, 2008 р. в авторській модифікації, у щурів призводить до порушення газового складу крові через 6 год дослід у вигляді респіраторного ацидозу, обумовленого підвищенням у крові pCO_2 та зниженням pO_2 та рН Потрібно зауважити, що ацидоз зменшує спорідненість гемоглобіну з киснем, що суттєво посилює тканинну гіпоксію. Зростання рН артеріальної крові, незначне зниження pCO_2 та підвищення pO_2 свідчать про компенсацію дихального ацидозу через 12 годин експерименту, проте через 24 год експерименту відбувається вірогідне зниження ($p < 0,001$) досліджуваних показників стосовно попередньої групи, що свідчить про наростання респіраторного ацидозу.

Впроваджено: на кафедрі хірургії з анестезіологією № 2 ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету.

4. **Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марущак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про динаміку змін газового складу крові та рН при гострому ураженні легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра хірургії з анестезіологією № 2 ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Зауваження, пропозиції: Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: *Викладачі кафедри*

Завідувач кафедри

хірургії з анестезіологією № 2
доктор медичних наук, професор

Олег

О.В. Олійник



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет імені І.Я. Горбачевського»

професор Марценюк В.П.

2012 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

6. **Пропозиція для впровадження:** Рівень активних форм кисню нейтрофілів у бронхоальвеолярному змиві за умови гострого ураження легень.

7. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.

Здобувач: Марущак Марія Іванівна.

8. **Джерело інформації:** 1. Марущак М.І. Роль активних форм кисню у розвитку і прогресуванні гострого ураження легень в експерименті / М.І. Марущак // Медична хімія. – 2012. – № 1. – С. 104-109.

2. 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. – № 1 (43). – С. 9-12.

При гострому ураженні легень відсоток кисневих радикалів у бронхоальвеолярному змиві різко зростає вже на 2 годину експерименту на 106 % ($p < 0,01$) і був високий протягом першої доби спостереження. Важливо відмітити, що власне гіперпродукція активних форм кисню в нейтрофільних гранулоцитах може зумовлювати функціональні порушення клітини і як наслідок смерть клітини в результаті розвитку окисного стресу. Проведений корелятивний аналіз даних бронхоальвеолярного змиву показав, що рівень активних форм кисню нейтрофілів у щурів з гострим ураженням легень мав сильний позитивний корелятивний зв'язок з кількістю лейкоцитів у через 6, 12 і 24 год експерименту та позитивний корелятивний зв'язок з абсолютною кількістю нейтрофілів у ці ж часові періоди. Оцінюючи отримані результати встановлено сильний негативний корелятивний зв'язок з рівнем рН крові через 2 та 6 год моделювання гострого ураження легень. Потрібно зауважити, що ацидоз зменшує спорідненість гемоглобіну з киснем, що суттєво посилює тканинну гіпоксію. Підвищення метаболізму, що виникає при гіпоксії зумовлює зростання рівня активних форм кисню.

Впроваджено: на кафедрі екстреної медичної допомоги і медицини катастроф з курсом військової підготовки ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету.

9. **Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марущак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про механізми розвитку окисного стресу та його роль у патогенезі гострого ураження легень.

10. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра екстреної медичної допомоги і медицини катастроф з курсом військової підготовки ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Зауваження, пропозиції: Не вносилися.

Завідувач кафедри екстреної медичної
Допомоги і медицини катастроф
з курсом військової підготовки
доктор медичних наук, професор

А.А. Гудима



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет імені І.Я. Горбачевського»
професор Марценюк В.П.
В.П. Марценюк 2012 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

- Пропозиція для впровадження:** Рівень активних форм кисню нейтрофілів у бронхоальвеолярному змиві за умови гострого ураження легень.
- Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.
Здобувач: Марущак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:** 1. Марущак М.І. Роль активних форм кисню у розвитку і прогресуванні гострого ураження легень в експерименті / М.І. Марущак // Медична хімія. – 2012. – № 1. – С. 104-109.

2. 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. – № 1 (43). – С. 9-12.

При гострому ураженні легень, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, відсоток кисневих радикалів у бронхоальвеолярному змиві різко зростає вже на 2 годину експерименту на 106 % ($p < 0,01$) і був високий протягом першої доби спостереження. Важливо відмітити, що власне гіперпродукція активних форм кисню в нейтрофільних гранулоцитах може зумовлювати функціональні порушення клітини і як наслідок смерть клітини в результаті розвитку окисного стресу. Проведений корелятивний аналіз даних бронхоальвеолярного змиву показав, що рівень активних форм кисню нейтрофілів у щурів з модельованим гострим ураженням легень мав сильний позитивний корелятивний зв'язок з кількістю лейкоцитів у через 6, 12 і 24 год експерименту та позитивний корелятивний зв'язок з абсолютною кількістю нейтрофілів у ці ж часові періоди. Оцінюючи отримані результати встановлено сильний негативний корелятивний зв'язок з рівнем рН крові через 2 та 6 год моделювання гострого ураження легень. Потрібно зауважити, що ацидоз зменшує спорідненість гемоглобіну з киснем, що суттєво посилює тканинну гіпоксію. Підвищення метаболізму, що виникає при гіпоксії зумовлює зростання рівня активних форм кисню.

Впроваджено: на кафедрі патологічної фізіології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету.

4. **Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марущак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про механізми розвитку окисного стресу та його роль у патогенезі гострого ураження легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патологічної фізіології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Зауваження, пропозиції: Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології
доктор медичних наук, професор

Ю.І. Бондаренко



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет імені І.Я. Горбачевського»
професор Марценюк В.П.

26 вересня 2012 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості патоморфологічних змін легень при гострому ураженні легень.

2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.

Здобувач: Марущак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:**

М.І. Марущак. 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.

Досліджено, що у щурів, яким інтратрахеально вводили гідрохлоридну кислоту, вже через 2 години експерименту спостерігаються специфічні для ГУЛ ознаки: міжальвеолярні перетинки характеризувалися повнокрів'ям, набряклістю, інфільтрацією лімфогістіоцитами, еритроцитами та палочкоядерними нейтрофільними гранулоцитами крові; вогнищево зустрічалися сегментоядерні лейкоцити; ділянки емфізематозно зміненої легеневої тканини; дрібні бронхи вогнищево були з вираженими дистрофічними змінами поверхневого епітелію, в просвіті деяких визначалися секрет або злуцений епітелій; виявлялось вогнищеве розширення альвеол, в легеневій тканині відмічались розлади мікроциркуляції; у судинах легеневого мікроциркуляторного русла виявлялося повнокрів'я, формувались сладжі.

Впроваджено: на кафедрі патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету.

4. **Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марущак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про гістологічні зміни в респіраторному відділі легень на ранньому етапі гострого ураження легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Зауваження, пропозиції: Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної анатомії
з секційним курсом та судовою медициною
доктор медичних наук, професор

Я.Я. Боднар



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет імені І.Я. Горбачевського»

професор Марценюк В.П.

« » 2012 р.**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості динаміки газового складу крові та рН при гострому ураженні легень.

2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.

Здобувач: Марущак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:**

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

2. Марущак М. І. Основні показники газового складу артеріальної крові у щурів з гострим ураженням легень легень / М. І. Марущак, Г. Г. Габор , М. Б. Виваль // Регіональна наукова конференція «Актуальні питання анестезіології та інтенсивної терапії». – Тернопіль. – 19-20 травня 2011 р. – С. 37-38.

Моделювання гострого ураження легень за методикою G. Matute-Bello, 2008 р. в авторській модифікації, у щурів призводить до порушення газового складу крові через 6 год дослід у вигляді респіраторного ацидозу, обумовленого підвищенням у крові рСО₂ та зниженням рО₂ та рН Потрібно зауважити, що ацидоз зменшує спорідненість гемоглобіну з киснем, що суттєво посилює тканину гіпоксію. Зростання рН артеріальної крові, незначне зниження рСО₂ та підвищення рО₂ свідчать про компенсацію дихального ацидозу через 12 годин експерименту, проте через 24 год експерименту відбувається вірогідне зниження (р<0,001) досліджуваних показників стосовно попередньої групи, що свідчить про наростання респіраторного ацидозу.

Впроваджено: на кафедрі хірургії з анестезіологією № 2 ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету.

4. **Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марущак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про динаміку змін газового складу крові та рН при гострому ураженні легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра хірургії з анестезіологією № 2 ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Зауваження, пропозиції: Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: *Гельсарагі Коржурі*

Завідувач кафедри
хірургії з анестезіологією № 2
доктор медичних наук, професор

Олег

О.В. Олійник



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет імені І.Я. Горбачевського»
професор Марценюк В.П.
« 7 » серпня 2012 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості ендогенної інтоксикації при експериментальному гострому ураженні легень.

2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Воли, 1, 46001, Україна.
Здобувач: Марушак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:**

1. Марушак М. І. Особливості патогенетичних механізмів ендогенної інтоксикації та гуморального імунітету при експериментальному гострому ураженні легень / М. І. Марушак // Вісник наукових досліджень. – 2011. - № 3. – С. 108-112.

2. Марушак М.І. Роль ендотоксикозу у розвитку гострого ураження легень / М. І. Марушак // XVI Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених. Матеріали конгресу, 23-25 квітня. – Тернопіль, "Укрмедкнига". – 2012. – С.192

При гострому ураженні легень, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, проведені дослідження з визначення вмісту МСМ/280 (ароматичні амінокислоти) у сироватці крові показали, що протягом 24 годин спостереження їх рівень достовірно зростає у всіх групах спостереження ($p < 0,05$) і був найвищим через добу експерименту, тобто на 68,17 % стосовно контролю. Порівнюючи отримані дані вмісту МСМ/254 і МСМ/280, можна говорити про однонаправлені зміни середньомолекулярних пептидів при різних довжинах хвилі, які характеризуються достовірним зростанням протягом 24 годин спостереження, що свідчить про наростання ендогенної інтоксикації.

Впроваджено: на кафедрі клінічної імунології, алергології та загального догляду за хворими ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету та ІІІІ медсестринства.

4. **Результати впровадження:** використання результатів М.І. Марушак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про механізми розвитку ендотоксикозу при гострому ураженні легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра клінічної імунології, алергології та загального догляду за хворими ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Зауваження, пропозиції: Не вносилися.

Завідувач кафедри
клінічної імунології, алергології
та загального догляду за хворими
доктор медичних наук, професор

І.Я. Господарський



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Вершинський професор
Кримського державного медичного
університету імені С.І. Георгієвського
професор Кубишкін А.В.
2012 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетична роль нейтрофільних гранулоцитів у патогенезі гострого ураження легень.

2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль, майдан Волі, 1, 46001, Україна.
Здобувач: Марушак Марія Іванівна.

3. **Джерело інформації:**

Патогенетична роль нейтрофільних гранулоцитів у розвитку гострого ураження легень / А.А. Гудима, М.І. Марушак Г.Г. Габор, М.І.Куліцька // Буковинський медичний вісник. – 2011. – № 3. – С. 17-21.

Моделювання гострого ураження легень за методикою G. Matute-Bello, 2008 р. в авторській модифікації, зумовлює регіонарну секвестрацію нейтрофілів в легенях, внаслідок чого в периферичній крові має місце зниження нейтрофілів, що обумовлює зниження метаболічного резерву нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові. Встановлено, що з міру прогресування патологічного процесу зменшується кількість лейкоцитів у крові, тоді як у бронхоальвеолярному змиві – зростає, в основному за рахунок нейтрофілів. Отримані результати вказують на те, що ініціація міграції нейтрофільних гранулоцитів у легень відбувається і за відсутності інфекційного агенту, тобто це є універсальна неспецифічна реакція організму на критичний патологічний процес.

Впроваджено: на кафедрі фізіотрії і пульмонології Кримського державного медичного університету імені С.І. Георгієвського.

Включено: У лекційний курс і практичні заняття студентів медичного факультету.

4. **Результати впровадження:** використання результатів М. І. Марушак у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про механізми розвитку гострого ураження легень.

5. **Термін впровадження:** 2012 р.

6. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра фізіотрії і пульмонології Кримського державного медичного університету імені С.І. Георгієвського.

7. **Зауваження, пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: проф. *Вершинський М.М.*

Завідувач кафедри фізіотрії і пульмонології
доктор медичних наук, професор

М.М. Гришин
М.М. Гришин