

УДК 616.381-002+616.379-008.64+616.24+616.61-008.6+616.37-002

*М.Р. Герасимчук, Л.М. Заяць, В.В. Черкасова, І.П. Кліщ*

*ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»*

## **ВПЛИВ ПОЛІЕТИОЛОГІЧНИХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ СТАНІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЛЕГЕНЬ**

Дослідження проведено на 164 білих щурах-самцях масою 180–230 г, яким були змодельовані критичні стани: гострий розлитий перитоніт (ГРП), гострий панкреатит (ГП), гостра ниркова недостатність (ГНН) і цукровий діабет (ЦД). Визначали коефіцієнт легеневої регуляції за лейкоцитами, у венозній та артеріальній крові, яку забирали з лівого та правого шлуночків серця. Для оцінки розвитку легеневого набряку використано Wet/Dry індекси, які підвищуються при накопиченні позасудинної рідини в легенях, об'єму циркулюючої крові або обох одночасно. Встановлено, що в умовах розвитку експериментальних критичних станів, таких як ГРП, ГП, ГНН та ЦД, спостерігається підвищена активність лейкоцитів і їх використання, зокрема в органах дихання. Коефіцієнт легеневої регуляції за лейкоцитами невинно зростає у дослідних групах протягом усього періоду дослідження, незважаючи на значні коливання кількості лейкоцитів, що вказує на підвищений рівень лейкоцитарної секвестрації в легенях. Доведено паралельний прогресуючий розвиток респіраторного ушкодження, яке проявлялось наростанням набряково-ексудативних явищ, що знайшло підтвердження у достовірних змінах Wet/Dry індексів.

**Ключові слова:** критичні стани, експеримент, перитоніт, гострий панкреатит, гостра ниркова недостатність, цукровий діабет.

Одним із провідних життєвоважливих багатофункціональних органів-мішеней є легені. Вони виконують також і дезінтоксикаційну функцію, внаслідок чого досить часто першими реагують на різні поліетиологічні стани. Так, у лікувальній практиці досить часто лікарям доводиться зустрічатися з такими критичними станами, як гострий розлитий перитоніт (ГРП), гострий панкреатит (ГП), гостра ниркова недостатність (ГНН), цукровий діабет (ЦД), які залишаються актуальною проблемою не тільки невідкладної хірургії та реаніматології, а також і терапії. Летальність при ГРП становить 20,0–92,8 % та прямо залежить від кількості уражених органів, залучених у патологічний процес [1]. Смертність за умов розвитку ГП різної етіології досягає 60–70 %, а ГНН – 15,6–62,8 %, тоді як при поєднанні з сепсисом становить більше 75 % і не має помітної тенденції до зниження [2]. Згідно даних ВООЗ, в економічно розвинених країнах світу до 4–6 % населення хворіє на ЦД. З віком кількість хворих зростає і після 65 років досягає 10–15 %. При цьому майже 80 % припадає на лікування хронічних ускладнень

ЦД [3]. Смертність людей з діабетом підвищується у 2–3 рази, а тривалість життя зменшується на 10–30 % [4].

Легеневі гемокапіляри стають першою ланкою для медіаторів і ендотоксинів. У результаті легені є першим органом на шляху детоксикації названих факторів, функція якого декомпенсується, супроводжуючись дисфункцією сурфактантної системи, що пов'язане з фосфоліпідним обміном, а також ушкодженням компонентів аерогематичного бар'єра [1]. Це пояснюється структурними і функціональними особливостями дихальної системи та прямою дією біологічних компонентів медіаторного каскаду на її метаболічні функції, що сприяє розладам мікроциркуляторного русла [2]. При цьому відбувається активація імунокомпетентних клітин, що супроводжується «респіраторним вибухом» і викидом великої кількості медіаторів запалення. Як наслідок, підвищується ендотеліальна проникність гемокапілярів легень, порушуються їх респіраторні і нереспіраторні функції, а в подальшому розвиваються вагомі зрушення у легеневій гемодинаміці з прогресуванням гострого ушкодження легень [5].

© М.Р. Герасимчук, Л.М. Заяць, В.В. Черкасова, І.П. Кліщ, 2016

**Матеріал і методи.** Дослідження проводилось на 164 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180–230 г, які були розділені на сім груп: 1-ша – інтактна; 2-га – контрольна (вводили 0,9%-вий розчин NaCl внутрішньоочередовно з розрахунку 1 мл на 100 г маси щура) для порівняння з показниками дослідних груп; 3-тя – дослідна, з ГРП (вводили 10%-ву калову суспензію з розрахунку 1 мл на 100 г маси щура внутрішньоочередовно); 4-та – з ГП (двічі внутрішньоочередовно вводили 20%-вий розчин L-аргініну в сумарній дозі 5 г/кг з інтервалом 1 год); 5-та – з ГНН (вводили 50%-вий водний розчин гліцеролу внутрішньом'язово в дозі 10 мл/кг); 6-та – з експериментальним стрептозотозин-індукованим ЦД. Для моделювання діабету відбирали тварин віком 2 міс (маса тіла 90–100 г). Стрептозотозин (Sigma, США) вводили одноразово внутрішньоочередовно із розрахунку 60 мг/кг, безпосередньо перед введенням розчинивши його у 0,5 мл 0,1 М цитратного буфера (рН=4,5) [3]. Усі дослідження проводили під кетаміновим наркозом (40 мг/кг).

Функціональну активність легень оцінювали за запропонованим нами коефіцієнтом легеневої регуляції за лейкоцитами у відсотках (КЛРл) [6].  $KLRl = (B-A)/B \cdot 100$ , де В – кількість лейкоцитів у венозній крові, А – в артеріальній [6], а також розраховували різницю між білокрівцями у венозній (Лв) та артеріальній (Ла) крові. Забір крові здійснювали через 1, 12, 24 та 48 год від початку моделювання критичного стану у 3-й – 5-й групах з лівого (артеріальна) та правого (венозна) шлуночків серця, а в 6-й групі з експериментальним ЦД на 14-ту і 28-му добу дослідження.

Для оцінки розвитку легеневого набряку використали Wet/Dry індекси [1, 7], які підвищуються при накопиченні позасудинної рідини в легенях, збільшенні об'єму циркулюючої крові або при обох одночасно. Використовували ліву легеню, яку після видалення з грудної клітки швидко промивали 0,9%-вим розчином NaCl, усували зайву вологу фільтрувальним папером і зважували з метою визначення її вологості (Wetm) маси. Потім препарат перекладали на фольгу та залишали протягом 24 год у термостаті при температурі 80 °С, після визначали масу сухої (Drym) легені. Нами розраховано наступні індекси: 1) співвідношення маси вологості (Wetm) легені до маси тіла твари-

ни (Bm), що репрезентує розвиток набряку легеневої тканини (НЛТ):  $NLT = (Wetm/Bm) \cdot 10,000$ ; 2) співвідношення маси сухої (Drym) легені до маси тіла тварини (Bm), що дозволяє оцінити утворення легеневого ексудату (ЛЕ):  $LE = (Drym/Bm) \cdot 10,000$ ; 3) вміст води в легенях:  $VL = (Wetm - Drym)/Wetm \cdot 100$ ; 4) співвідношення маси вологості легені до маси сухої (ВСЛ), воно дозволяло гравіметрично вимірювати кількісний індекс рівня легеневого набряку:  $BSL = Wetm/Drym$ .

Отримані дані статистично обробили за допомогою критеріїв непараметричної статистики (Вілкоксона та Sign-тесту). Результати вважали вірогідними, якщо коефіцієнт вірогідності дорівнював  $p < 0,05$ .

**Результати.** Нами було встановлено, що вже через 1 годину від початку експерименту КЛРл був достовірно вищим при ГРП як у контрольних тварин, так і у дослідних і становив  $(11,74 \pm 2,94) \%$  та  $(1,62 \pm 0,99) \%$  у 2-й групі, що було найвищим результатом серед усіх груп. Так, КЛРл у 4-й групі з експериментальною ГП перевищував контрольні значення у 4,3 раза ( $p < 0,05$ ), а у 5-й групі з ГНН – у 4,4 раза ( $p < 0,05$ ).

Через 12 годин від початку експерименту визначено наростання лейкоцитозу із збільшенням показника лейкоцитарної різниці у 2,6; 1,9 та 2,2 раза ( $p < 0,05$ ) у 3-й, 4-й та 5-й групах відповідно. Подібна тенденція відзначалась щодо КЛРл, який переважав над контролем у 13,4 раза ( $p < 0,05$ ) при ГРП та 5,7 і 8,1 раза ( $p < 0,05$ ) при ГП і ГНН. Хоча на 24-ту годину після введення калової суспензії і було характерно зменшення рівня лейкоцитів і показника їхньої різниці на 49,83 % ( $p < 0,05$ ), але КЛРл продовжував стійко наростати, будучи на 25,41 % ( $p < 0,05$ ) вищим порівняно із результатом на 12-ту годину. При цьому у 4-й і 5-й групах продовжувалось наростання лейкоцитозу, який перевищував показники контролю майже втричі, а КЛРл зростав, хоча і не так стрімко, як у тварин з перитонітом, тоді як через 14 діб від початку моделювання ЦД відмічався незначний лейкоцитоз і показник КЛРл становив  $(2,14 \pm 0,98) \%$ . Така ж тенденція зберігалась із продовженням тривалості експерименту.

На 48-му годину при ГРП, ГП та ГНН реактивно збільшувалась кількість білих кров'яних тілець, паралельно з якою у 2,2; 1,9 та 2,1 раза ( $p < 0,05$ ) відповідно зростає різниця між Лв та Ла. КЛРл й надалі прогресував,

досягнувши рівня ( $36,22 \pm 3,44$ ), ( $24,98 \pm 4,12$ ) та ( $30,65 \pm 3,86$ ) % ( $p < 0,05$ ) відповідно, що є прогностично несприятливим і свідчить про неконтрольовану затримку білих кров'яних тілець, а також репрезентує прогресуючий розвиток гострого ушкодження легень [1, 2], тоді як на 28-му добу дослідження у щурів 6-ї групи з ЦД відзначалась помірна лейкопенія, а КЛРл достовірно зріс у 3,8 раза.

Для визначення та оцінки розвитку легеневого набряку було використано Wet/Dry індекси. Аналіз отриманих результатів показав, що всі індекси достовірно зростали з 12-ї години дослідження із максимальним значенням на 48-му годину експерименту у 3-й, 4-й та 5-й групах. Зокрема, НЛТ перевищував контрольні дані через 12 годин від початку експерименту на 15 % ( $p < 0,05$ ) при ГРП. Через 24 години після введення калової суспензії НЛТ збільшився відносно контролю на 34,51 % ( $p < 0,05$ ), ЛЕ – на 17,15 % ( $p < 0,05$ ), ВЛ – на 10,37 % ( $p < 0,05$ ), а ВСЛ – на 21,17 % ( $p < 0,05$ ). При відтворенні ГП у тварин 4-ї групи НЛТ збільшився відносно контролю на 28,77 % ( $p < 0,05$ ), ЛЕ – на 16,32 % ( $p < 0,05$ ), ВЛ – на 11,81 % ( $p < 0,05$ ), ВСЛ – на 17,93 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. НЛТ у щурів з ГНН збільшився відносно контролю на 33,11 % ( $p < 0,05$ ), ЛЕ – на 18,07 % ( $p < 0,05$ ), ВЛ – на 8,82 % ( $p > 0,05$ ), ВСЛ – на 20,96 % ( $p < 0,05$ ). На 48-му годину дослідження відзначено продовження зростання всіх Wet/Dry індексів порівняно з контролем. Це відображено наступними результатами: у щурів 3-ї групи НЛТ підвищився у 1,9 раза ( $p < 0,05$ ), ЛЕ – в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), ВЛ – на 10,78 % ( $p < 0,05$ ), ВСЛ – на 21,82 % ( $p < 0,05$ ); у 4-й групі НЛТ підвищився в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), ЛЕ – в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), ВЛ – на 9,43 % ( $p > 0,05$ ), ВСЛ – на 17,38 % ( $p < 0,05$ ); у 5-й групі НЛТ підвищився у 1,9 раза ( $p < 0,05$ ), ЛЕ – в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ), ВЛ – на 11,39 % ( $p < 0,05$ ), ВСЛ – на 20,17 % ( $p < 0,05$ ), тоді як за умов розвитку експериментального ЦД Wet/Dry індекси наростали значно повільніше до 28-ї доби і не досягали достовірних значень, окрім індексу НЛТ, який підвищився у 1,4 раза ( $p < 0,05$ ).

**Обговорення результатів.** Аналізуючи отримані дані щодо початкового лейкоцитозу паралельно зі зростанням коефіцієнта легеневої регуляції за лейкоцитами, варто звернути увагу на розвиток лейкопенії після 1-ї доби дослідження, що свідчило про підвищення рівня секвестрації лейкоцитів у ле-

генях і порушення фагоцитарних процесів. Так, за даними ряду авторів, навіть за умов нейтропенії відбувається стимуляція транскрипційного фактора NF- $\kappa$ B, який регулює продукцію антиапоптичних білків [8]. При ендотоксемії активація NF- $\kappa$ B збільшується в легенях, але не у нейтрофільних гранулоцитах крові, пояснюючи підвищення експресії прозапальних цитокінів популяцією легеневої нейтрофільних гранулоцитів [5]. І.Н. Швидченко зі співавт. встановлено, що навіть незначна доза ліпополісахариду бактерій запускає нейтрофільну активацію та потенціює продукцію ними прозапальних цитокінів [9]. Це веде до зростання mRNA та білків, IL-1 $\beta$ , MIP-2, TNF- $\alpha$  і вивільнення з первинних гранул у позаклітинний простір еластази, що ініціює гостру запальну відповідь, лейкоцитарну секвестрацію вже через 15–30 хв від початку дії ендотоксину, розщеплюючи рецептори ліпополісахаридів, і спричинює легенево ушкодження [7, 10].

Що ж до оцінки легеневого ушкодження, яке підтверджено наростанням набряково-ексудативних явищ за допомогою Wet/Dry індексів, то дані патологічні процеси супроводжували розвиток усіх досліджуваних критичних станів. Так, відомим є факт, що при акумуляції рідини в інтерстиціальній тканині з 35 до 50 % вона починає проникати на поверхню альвеол і форсується альвеолярний набряк легень. Тому отримані дані свідчать про формування гострого ушкодження легень внаслідок впливу нейтрофільних гранулоцитів при зростаючій ендотоксемії, з подальшим прогресуючим розвитком НЛТ і накопиченням ексудативної рідини. У результаті потенціювання таких механізмів розвивається дихальна недостатність, що підтверджено іншими науковцями [11]. При цьому запальна активність нейтрофільних гранулоцитів генерується системою комплексу (C5a), активацію якої поєднують із ушкоджуючим ефектом дії оксидантів і протеаз на ендотелій капілярів [12]. Таким чином, центральною патогенетичною складовою у розвитку набряку при гострому ушкодженні легень є інтерреакція між нейтрофільними гранулоцитами і ендотелієм, маніфестуючи гострою дихальною недостатністю, що перекликається з дослідженнями ряду авторів як при гострому ушкодженні легень, так і при інших деструктивних процесах у легенях.

### Висновки

В умовах розвитку експериментальних патологічних станів, таких як гострий розлитий перитоніт, гострий панкреатит, гостра ниркова недостатність та цукровий діабет, встановлена підвищена активність лейкоцитів і їх використання, зокрема в органах дихання. За допомогою коефіцієнта легеневої регуляції за лейкоцитами нами визначено елевацію рівня лейкоцитарної секвестрації у легенях. Коефіцієнт легеневої регуляції за лейкоцитами невпинно зростає протягом усього дослідження, незважаючи на значні коливання кількості лейкоцитів. Доведено паралельний прогресуючий розвиток респі-

раторного ушкодження, що знайшло підтвердження у достовірних змінах Wet/Dry індексів.

**Перспективність дослідження.** Отримані експериментальні дані дослідження лейкоцитарної секвестрації у щурів при різних патологічних станах мають не тільки теоретичне, але й практичне значення. Ці результати, зокрема коефіцієнт легеневої регуляції за лейкоцитами, можуть стати базисом тактики інтенсивної терапії пацієнтів із гострим розлитим перитонітом, гострою кишковою непрохідністю, гострою нирковою недостатністю та цукровим діабетом, а також профілактики розвитку гострого ураження легень.

### Література

1. *Gerasymchuk M.R.* The role of endogenous intoxication and neutrophils in mechanisms of acute lung injury in case of experimental peritonitis / M.R. Gerasymchuk, L.M. Zayats, V.V. Cherkasova // Вестник КазНМУ. – 2013. – № 5. – С. 76–80.
2. *Gerasymchuk M.R.* Place of endogenous intoxication at an early stage of development of the critical states of various etiologies / M.R. Gerasymchuk, I.P. Klishch, N.Ya. Varnava // Inter-Medical. – 2015. – № 3 (9). – P. 21–24.
3. Role of endogenous intoxication in the lung injury development during experimental diabetes mellitus / M.R. Gerasymchuk, B.M. Kishchuk, L.M. Zayats, V.V. Cherkasova // Clinical Pharmacy. – 2013. – Vol. 17, № 4. – P. 48–51.
4. Experimental diabetes mellitus: oxidative stress and changes in lung structure / L.A Jr. Forgiarini, N.A. Kretzmann, M. Porawski, et al. // J. Bras. Pneumol. – Aug 2009. – № 35 (8). – P. 788–791.
5. 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. – № 290. – P. L51–L58.
6. *Герасимчук М.Р.* Пат. 71009 Україна, МПК (2012.01) А61В 1/00, А61В 5/08 (2006.01). Спосіб діагностики гострого легеневого ушкодження при розлитому перитоніті у щурів / Герасимчук М.Р., Заяць Л.М. U 201200810; заявл. 26.01.12; опубл. 25.06.12. Бюл. № 12.
7. *Gerasymchuk M.R.* Neutrophil sequestration role in the initiation of lung injury in rats with acute peritonitis / M.R. Gerasymchuk // Folia Medica Cassoviensia. – 2011. – Т. 66, № 1, Suppl. 1. – P. 150–153.
8. 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. Biol. – 2000. – № 279. – P. 1137–1145.
9. *Швыдченко И.Н.* Цитокинсекретирующая функция нейтрофильных гранулоцитов / И.Н. Швыдченко, И.В. Нестерова, Е.Ю. Синельникова // Иммунология. – 2005. – № 1. – С. 31–34.
10. Differential effects of antibiotics in combination with G-CSF on survival and polymorphonuclear granulocyte cell functions in septic rats / A. Bauhofer, M. Huttel, W. Lorenz, et al. // BMC Infect. Diseases. – 2008. – № 8. – P. 55–65.
11. *Rodrigo R.* Biochemical and ultrastructural lung damage induced by rhabdomyolysis in the rat / R. Rodrigo, S. Trujillo, C. Bosco // Exp. Biol. Med. – 2006. – № 231. – P. 1430–1438.
12. *Olson T.S.* L-selectin is required for fMLP but not C5a-induced margination of neutrophils in pulmonary circulation / T.S. Olson, K. Singbartl, K. Ley // Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol. – 2002. – № 282. – P. 1245–1252.

**М.Р. Герасимчук, Л.М. Заяць, В.В. Черкасова, И.П. Клищ**

### ВЛИЯНИЕ ПОЛИЭТИОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЙ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛЕГКИХ

Исследование проведено на 164 белых крысах-самцах массой 180–230 г, которым были смоделированы критические состояния: острый разлитой перитонит (ОРП), острый панкреатит

(ОП), острая почечная недостаточность (ОПН) и сахарный диабет (СД). Определяли коэффициент легочной регуляции по лейкоцитам в венозной и артериальной крови, которую брали из левого и правого желудочков сердца. Для оценки развития легочного отека использованы Wet/Dry индексы, которые повышаются при накоплении внесосудистой жидкости в легких, объема циркулирующей крови или обоих одновременно. Установлено, что в условиях развития экспериментальных критических состояний, таких как ГРП, ГП, ОПН и СД, наблюдается повышенная активность лейкоцитов и их использования, в частности в органах дыхания. Коэффициент легочной регуляции по лейкоцитам неуклонно рос в опытных группах на протяжении всего исследования, несмотря на значительные колебания количества лейкоцитов, что указывает на повышенный уровень лейкоцитарной секвестрации в легких. Доказано параллельное прогрессирующее развитие респираторного повреждения, которое проявлялось нарастанием отечно-экссудативных явлений, что нашло подтверждение в достоверных изменениях Wet/Dry индексов.

**Ключевые слова:** критические состояния, эксперимент, перитонит, острый панкреатит, острая почечная недостаточность, сахарный диабет.

**M.R. Gerasymchuk, L.M. Zaiats, V.V. Cherkasova, I.P. Klishch**

**INFLUENCE OF THE POLYETIOLOGICAL EXPERIMENTAL CONDITIONS ON THE LUNGS  
FUNCTIONAL STATUS**

The study was carried out on 164 white male rats (180–230 g), and were modeled critical conditions (CC): acute diffuse peritonitis (ADP), acute pancreatitis (AP), acute renal failure (ARF) and diabetes mellitus (DM). We determined the rate of pulmonary regulation by leukocytes in percentage (CLRI) in venous and arterial blood, which is taken from the left and right ventricles of the heart. To evaluate the pulmonary edema development we used Wet/Dry index, which increased in case of accumulation of extravascular fluid in the lungs, blood volume, or both. We found that in terms of critical experimental conditions such as ADP, AP, ARF and DM observed increased activity of leukocytes and their use, particularly in the respiratory organs. CLRI steadily increased in experimental groups throughout the study, despite significant fluctuations in the number of white blood cells, indicating elevated levels of leukocyte sequestration in the lungs. It was proved in parallel progressive development of respiratory damage, which manifested an increasing swelling and exudative phenomena, which was confirmed by the significant changes Wet/Dry index.

**Key words:** critical condition, experiment, peritonitis, acute pancreatitis, acute renal failure, diabetes mellitus.

*Поступила 16.03.16*