

легких (ОПЛ) с введением интратрахеально раствора соляной кислоты (рН = 1,2) в расчете на 1 мг/кг массы животных. Регистрацию электрокардиоинтервалов проводили через 12, 24, 48 и 72 ч ОПЛ. Рассчитывали такие показатели, как индекс напряжения регуляторных систем, индекс вегетативного равновесия, вегетативный показатель ритма и показатель адекватности процессов регуляции. Полученные результаты свидетельствуют, что на 12 и 72 ч ОПЛ происходит усиление централизации сердечного ритма и усиление симпатического влияния на синус-атриальный узел. Через 24-48 ч ОПЛ возникает период так называемого временного благополучия, что проявляется увеличением активности автономных механизмов регуляции.

Ключевые слова: вариативность сердечного ритма, острое поражение легких

Впервые поступила в редакцию 16.05.2013 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

112

УДК: 616-005+616-005.4+616.005.1:616.15:577.1

СОСТОЯНИЕ ПРОТЕИНАЗ-ИНГИБИТОРНОЙ СИСТЕМЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ И БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО СМЫВА В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ РЕПЕРФУЗИОННОГО СИНДРОМА И ПРИ ЛЕЧЕНИИ АНТИОКСИДАНТАМИ И ИНГИБИТОРАМИ ПРОТЕИНАЗ

Жукова А.А.

ГУ «Крымский Государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», кафедра патологической физиологии, г. Симферополь.

В статье представлены результаты экспериментального исследования реперфузионного синдрома, осложненного кровопотерей и патогенетической коррекции данного состояния. Было обнаружено, что употребление ингибиторов протеиназ и антиоксидантов для коррекции реперфузионного синдрома, осложненного кровопотерей способствует нормализации показателей протеиназ-ингибиторной системы сыворотке крови и бронхоальвеолярного смыва крыс. Ключевые слова: реперфузионный синдром, кровопотеря, протеиназы, ингибиторы протеиназ, антиоксиданты.

Ключевые слова: реперфузионный синдром, кровопотеря, протеиназы, ингибиторы протеиназ, антиоксиданты.

Введение

По международным статистическим

данным, в мире в течение одного года происходят в среднем 4-10 стихийных

Summary

DYNAMICS OF THE HEART RATE VARIABILITY IN ACUTE LUNG INJURY

Kostina O.O.

The experiment involved rats with average resistance to hypoxia. The animals underwent an acute lung injury (ALI) with the introduction of hydrochloric acid solution (pH = 1,2) into the trachea at the rate of 1 mg/kg of animals' body weight. Electric cardio-intervals were registered after 12, 24, 48 and 72 hours after ALI. Such indicators as the index of tension of regulatory systems, the index of autonomic balance, vegetative index of heart rhythm and index of the adequacy of regulation processes were calculated. The results show that after 12 and 72 hours after ALI there is an amplified centralization of heart rhythm and increased sympathetic influence on the sinus-atrial node. Within 24-48 hours after ALI there is a period of so-called temporary recovery that shows itself by an increased activity of autonomous regulatory mechanisms.

Keywords: heart rate variability, acute lung injury

бедствий, техногенных катастроф, более 30 случаев локальных военных конфликтов, а также отмечен постоянный рост дорожно-транспортного травматизма, в которых 15-25 % пострадавших получают травмы опорно-двигательного аппарата со сдавлением мягких тканей. При восстановлении кровообращения возникает реперфузионный синдром (РС), характеризующийся крайне тяжелым течением и высокой летальностью, достигающей по разным источникам 30-70 % [1, 2]. Причем, как правило, преобладают комбинированные поражения, из которых одним из наиболее частых сочетаний является формирование РС на фоне острой кровопотери. При этом сочетание повреждающих факторов в результате развития синдрома взаимного отягощения приводит к раннему развитию шока и более тяжелому его течению.

В последнее время механизмы формирования шоковых состояний рассматриваются с точки зрения формирования синдрома системной воспалительной реакции [3]. Происходящая при этом активация нейтрофилов сопровождается выбросом во внеклеточное пространство протеиназ и активных форм кислорода (АФК), обладающих значительным повреждающим действием на ткани организма, что приводит к нарушению проницаемости сосудов, микроциркуляции, расстройствам гемодинамики способствует развитию органопатологии, ведущее место в которой занимает острый респираторный дистресс синдром (ОРДС) [4, 5]. Учитывая важную роль протеиназ и оксидантов в патогенезе РС, осложненного кровопотерей целесообразным является использование для патогенетической коррекции данного состояния ингибиторов, подавляющих активность эндогенных протеолитических ферментов и антиоксидантов, защищающих плазменные ингибиторы протеиназ от воздействия АФК [6]. В связи с этим, целью нашей работы явилось установление роли процессов протеолиза в патогенезе РС, осложненного кровопотерей и

экспериментальное обоснование патогенетической коррекции указанных состояний с помощью сочетанного применения ингибиторов протеиназ и антиоксидантов.

Материалы и методы

Эксперимент был проведен на 97 белых крысах линии «Wistar» (массой 180-200 граммов). Острую кровопотерю вызывали с помощью забора крови из хвостовой вены из расчета 10 % ОЦК. Непосредственно после острой кровопотери формировали ишемию, путем наложения резиновых жгутов на уровне паховой складки на задние конечности сроком 6 часов под легким эфирным наркозом. РС моделировали путем реваскуляризации ранее ишемизированных конечностей. Забор биологического материала производили через 24 часа после реваскуляризации конечностей. Кровь для исследований получали путем декапитации наркотизированных крыс. Бронхоальвеолярный смыв (БАС) получали путем промывания легких через трахею 10 мл физиологического раствора. Экспериментальные исследования проводились в соответствии с требованиями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются в исследовательских и других научных целях» (Strasbourg, 18.03.1986).

Исследуемые животные были разделены на 7 групп: I группа – контрольная, интактные животные (n = 12), II группа – ишемия 6ч, без реперфузии, (n = 10), III группа – РС 24ч, (n = 15), IV группа – РС 24ч, осложненный кровопотерей, без лечения, с внутрибрюшинным введением изотонического раствора NaCl из расчета 10 мл/кг (n = 15), V группа – РС 24ч, осложненный кровопотерей с лечением путем введения корвитина внутрибрюшинно в дозе 10мг/кг массы тела (n = 15), VI группа – РС 24ч, осложненный кровопотерей с лечением путем введения гордокса внутрибрюшинно в дозе 20000 КИЕД/кг (n = 15), VII группа – РС 24ч, осложненный кровопотерей с лечением путем сочетанного введения корви-

тина и гордокса внутривенно в указанных дозах ($n = 15$). В эксперименте использовали ингибитор протеиназ гордокс (APROTININUM, «Gedeon Richter», Венгрия) и антиоксидант корвитин, являющийся водорастворимой формой бифлавоноида кверцетина (ЗАО НПЦ «Борщаговский химико-фармацевтический завод», г. Киев).

В сыворотке крови и БАС определяли показатели протеиназ-ингибиторной системы с использованием энзиматических методов [7], измерения проводили на спектрофотометре «Biomate 5» (Великобритания). Эластазоподобную активность (ЭПА) определяли по скорости ферментативного гидролиза синтетического субстрата N-т-бок-L-аланил-п-нитрофенилового эфира (BANFE) («Reanal», Венгрия), трипсиноподобную активность (ТПА) по скорости отщепления бензоил-аргинина от N- \pm -бензоил-L-аргинин-этилового эфира (BAEE) («Reanal»), антитриптическую активность (АТА) и кислотостабильные ингибиторы (КСИ) по торможению биологическим материалом ферментативного гидролиза трипсином («Spofa» (Чехия) BAEE. Показатели протеиназ-ингибиторной системы БАС выражали в пересчете на 1 мг общего белка БАС. Концентрацию общего белка определяли по методу Лоури.

Все полученные результаты исследований подвергали статистической обработке методом вариационной статистики, с выведением критерия достоверности Стьюдента, достоверными считали показатели при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что при моделировании ишемии происходило увеличение протеолитической активности сыворотки крови, которое проявлялось увеличением уровня ТПА на 29,7 % и ЭПА на 18,5 % по сравнению с контролем, которое сопровождалось недостоверным увеличением АТА и значительным снижением уровня КСИ на 62,3 % ниже контрольных значений (Табл. 1).

Звездочками показана достоверность различий (P): * — по отношению к контролю ($P < 0,05$); ** — по отношению к группе с реперфузионным синдромом 24ч, осложненным кровопотерей, без лечения ($P < 0,05$).

При развитии РС и РС, осложненного кровопотерей, было выявлено увеличение ТПА на 24,3 % и 32,8 % выше контроля соответственно, которое сопровождалось снижением уровня обоих ингибиторов протеиназ. Введение корвитина, гордокса и сочетанное применение этих препаратов способствовало снижению ТПА ниже контрольных значений и нормализации уровней АТА и КСИ. Причем самые высокие уровни ингибиторов протеиназ сыворотки крови были зафиксированы при использовании гордокса и сочетанном применении гордокса и корвитина.

При исследовании протеиназ-ингибиторной системы БАС при ишемии было выявлено увеличение активности протеолитических ферментов: ТПА на 93,9 %, ЭПА на 31,8 % по сравнению с контрольными показателями. Также было выявлено снижение АТА на 36,6 % и незначительное увеличение уровня КСИ по сравнению с контролем (Табл. 2).

Звездочками показана достоверность различий (P): * — по отношению к контролю ($P < 0,05$); ** — по отношению к группе с реперфузионным синдромом 24ч, осложненным кровопотерей без лечения ($P < 0,05$).

Моделирование РС и РС, осложненного кровопотерей сопровождалось увеличением уровня протеиназ и падением ингибиторного потенциала БАС. Причем наиболее выраженное повышение ТПА на 50,2 % и снижение АТА на 41,8 %, КСИ на 73,6 % наблюдалось при РС, осложненном кровопотерей. Использование корвитина, гордокса и сочетанное применение этих препаратов способствовало нормализации показателей ТПА, ЭПА и АТА. Патогенетическая коррекция способствовала увеличению уровня КСИ, но

Таблица 1

Динамика изменений протеиназ-ингибиторной системы сыворотки крови при РС, осложненном кровопотерей и при комбинированном лечении

Показатель серия	ТПА	ЭПА	АТА	КСИ
	Мк/Мл*мин	МкМ/мл*мин	ИЕ/мл*мин	ИЕ/мл*мин
Контроль	0,37 ± 0,05	2,48 ± 0,15	39,3 ± 2,5	11,4 ± 0,14
Ишемия 6 часов	0,26 ± 0,01*	2,02 ± 0,19*	44,1 ± 1,5	4,3 ± 0,69*
Реперфузионный синдром 24ч	0,46 ± 0,02	1,43 ± 0,11*	18,7 ± 1,8*	3,5 ± 0,19*
РС, осложненный кровопотерей, 24ч	0,49 ± 0,04*	0,89 ± 0,05*	20,3 ± 2,9*	4,9 ± 0,27*
РС, осложненный кровопотерей, 24ч +корвитин	0,34 ± 0,04**	1,01 ± 0,04*	30,6 ± 1,6***	4,9 ± 0,28*
РС, осложненный кровопотерей 24ч+гордокс	0,26 ± 0,06**	0,89 ± 0,15*	48,7 ± 1,2***	6,9 ± 0,22***
РС, осложненный кровопотерей 24ч+корвитин+гордокс	0,25 ± 0,01***	0,94 ± 0,07*	54,4 ± 1,9***	7,1 ± 1,3***

Примечание: Звездочками показана достоверность различий (P): * — по отношению к контролю (P < 0,05); ** — по отношению к группе с реперфузионным синдромом 24ч, осложненным кровопотерей, без лечения (P < 0,05).

Таблица 2

Динамика изменений протеиназ-ингибиторной системы БАС при РС, осложненном кровопотерей и при комбинированном лечении

Показатель серия	ТПА	ЭПА	АТА	КСИ
	мкМ/мг*мин	мкМ/мг*мин	мИЕ/мг	мИЕ/мг
Контроль	18,2 ± 1,2	59,9 ± 4,0	222,8 ± 22,0	206,1 ± 36,6
Ишемия 6 часов	35,3 ± 3,5*	79,0 ± 3,7*	141,1 ± 29,5*	262,4 ± 8,2
Реперфузионный синдром 24ч	19,0 ± 3,1	77,3 ± 1,9*	155,4 ± 12,4*	71,6 ± 5,6*
РС, осложненный кровопотерей, 24ч	27,3 ± 0,8*	72,7 ± 4,0*	129,7 ± 16,4*	54,4 ± 7,1*
РС, осложненный кровопотерей, 24ч +корвитин	14,5 ± 1,9**	59,9 ± 3,0**	202,0 ± 16,8**	55,9 ± 8,5*
РС, осложненный кровопотерей 24ч +гордокс	15,5 ± 1,08**	35,9 ± 1,1***	232,9 ± 20,6**	120,7 ± 7,3***
РС, осложненный кровопотерей 24ч +корвитин+гордокс	10,4 ± 1,2***	33,4 ± 3,0***	242,9 ± 18,8**	126,4 ± 3,9***

Примечание: Звездочками показана достоверность различий (P): * — по отношению к контролю (P < 0,05); ** — по отношению к группе с реперфузионным синдромом 24ч, осложненным кровопотерей без лечения (P < 0,05).

содержание данного ингибитора осталось ниже нормы во всех трех группах с лечением.

Таким образом, в ходе проведенных исследований было выявлено, что при моделировании ишемии задних конечностей у крыс происходит снижение активности протеиназ в сыворотке крови и их увеличение в БАС на фоне повышение уровня АТА в сыворотке крови и количества КСИ в бронхоальвеолярном секрете. Можно предположить, что, увеличение АТА в сыворотке крови при ишемии является защитной реакцией организма, направленной на ограничение протеолиза. Об этом также может свидетельство-

вать увеличение активности КСИ в БАС, что возможно является одним из механизмов протекции легких от протеолитического повреждения. Увеличение активности протеолитических ферментов и снижение ингибиторов протеиназ при РС и РС, осложненном кровопотерей в сыворотке крови и БАС очевидно свидетельствует об истощении компенсаторных возможностей организма и может рассматриваться как неблагоприятная реакция. Причем угнетение ингибиторного потенциала и активация протеиназ более выражены при отягощенном течении патологии. Этим можно объяснить увеличение риска развития ОРДС, так

как снижение ингибиторного потенциала и увеличение активности эластазоподобных протеиназ в БАС способны приводить к повреждению эластиновых волокон соединительной ткани легких и её деструкции [8, 9].

В проведенных исследованиях установили, что использование ингибиторов протеиназ и антиоксидантов приводит к снижению уровня протеиназ и увеличению уровня их ингибиторов как в сыворотке крови, так и в БАС. Причем наилучший эффект достигается при сочетанном использовании данных препаратов. Это, по-видимому, связано с тем, что ингибитор протеиназ гордокс оказывает прямой

эффект, способствуя снижению уровня эндогенных протеиназ и увеличению ингибиторного потенциала. В свою очередь антиоксидант корвитин способствует защите ингибиторов протеиназ, активность которых снижается под действием активных форм кислорода, гиперпродукция которых возникает при окислительном стрессе, возникающем при РС [8]. Таким образом, сочетанное применение ингибиторов протеиназ и антиоксидантов является патогенетически обоснованным методом коррекции РС, осложненного кровопотерей, а определение показателей протеиназ-ингибиторной системы может служить объективным критерием оценки состояния защитных систем организма, а также свидетельствовать об эффективности проводимого лечения.

Выводы

1. При моделировании у экспериментальных крыс ишемии задних конечностей, как в сыворотке крови, так и в бронхоальвеолярном смыве отмечается некоторый рост ингибиторного потенциала при стабильных значениях протеолитической активности, что можно объяснить включением компенсаторных механизмов организма.
2. При моделировании реперфузионного синдрома и реперфузионного синдрома, осложненного кровопотерей происходит истощение компенсаторных механизмов, проявляющееся в развитии дисбаланса протеиназ-ингибиторной системы сыворотки крови и бронхоальвеолярного смыва с активацией протеиназ и подавлением ингибиторного потенциала.
3. Применение ингибиторов протеиназ и антиоксидантов для коррекции реперфузионного синдрома, осложненного кровопотерей способствует нормализации показателей протеиназ-ингибиторной системы сыворотки крови и бронхоальвеолярного смыва крыс, причем наибольший эффект достигается при сочетанном применении указанных препаратов.

Литература

1. Зарубина И.В. Значение индивидуальной устойчивости к гипоксии для течения тяжелой компрессионной травмы / И.В. Зарубина, И.А. Юнусов, П.Д. Шабанов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2010. – №3. – С. 24–29.
2. Попов А.С. Безаппаратный мембранный плазмаферез в комплексной терапии пострадавших с краш-синдромом на этапах эвакуации в условиях аэромобильного госпиталя МЧС России / А.С. Попов, С.П. Логинов, // Анестезиология и реаниматология. – 2007. – № 4. – С.28–30.
3. Авдеева М.Г. Патогенетические механизмы инициации синдрома системного воспалительного ответа / М.Г. Авдеева, М.Г. Шубич // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – № 6. – С. 3–10.
4. Бережной С.Г. Респираторная поддержка с использованием многоуровневой вентиляции легких у больных при критических состояниях с системной воспалительной реакцией / С. Г. Бережной, В.Н. Лукач // Анестезиология и реаниматология. – 2012. – № 2. – С. 55–58.
5. Никонов В.В. Синдром полиорганной недостаточности: «шоковое легкое» / В.В. Никонов, А.Ю. Павленко, А.В. Белецкий // Медицина неотложных состояний. – 2011. — № 7–8. – С. 9–16.
6. Кубышкин А.В. Влияние способа введения ингибиторов протеиназ на эффективность подавления активности протеолиза при воспалении легких / А.В. Кубышкин, И.И. Фомочкина // Физиологический журнал. – Т. 55, № 1. – С. 43 -48.
7. Методи визначення активності неспецифічних протеїназ і їх інгібіторів у сироватці крові і біологічних рідинах: методичні рекомендації / [А.В. Кубишкін, В.З. Харченко, П.Ф. Семінець П.Ф. та ін.]. – Київ, 2010.

8. Активность трипсиноподобных протеиназ и деградация коллагена слизистой оболочки кишечника при язвенных заболеваниях желудочно-кишечного тракта / О.Е. Акбашева, В.А. Бурковская, А.Е. Деханд [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2010. – Т. XX., №2. – С. 62 – 66.
9. Кубышкин А.В. Эластолитическая активность бронхоальвеолярного лаважа при моделировании воспалительного процесса в легких / А.В. Кубышкин, И.И. Фомочкина // Український біохімічний журнал. – Т. 80, № 1. – С. 89-95.

Резюме

СТАН ПРОТЕЇНАЗ-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ СИРОВАТКИ КРОВІ І БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО ЗМИВА В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ РЕПЕРФУЗІЙНОГО СИНДРОМУ УСКЛАДНЕНОГО КРОВОВТРАТОЮ І ПРИ ЛІКУВАННІ АНТИОКСИДАНТАМИ І ІНГІБІТОРАМИ ПРОТЕЇНАЗ

Жукова Г.О.

У статті представлені результати експериментального дослідження реперфузійного синдрому, ускладненого крововтратою і патогенетичної корекції даного стану. Було виявлено, що вживання інгібіторів протеїназ і антиоксидантів для корекції реперфузійного синдрому, уск-

ладненого крововтратою сприяє нормалізації показників протеїназ-інгібіторної системи сироватки крові і бронхоальвеолярного змиву щурів. Ключові слова: реперфузійний синдром, крововтрата, протеїнази, інгібітори протеїназ, антиоксиданти.

Ключові слова: реперфузійний синдром, крововтрата, протеїнази, інгібітори протеїназ, антиоксиданти.

Summary

STATE OF THE PROTEINASE-INHIBITOR SYSTEM OF BLOOD AND BRONCHOALVEOLAR LAVAGE FLUID IN DYNAMICS OF REPERFUSION INJURY COMPLICATED BY BLOOD LOSS AND WITH TREATMENT BY ANTIOXIDANTS AND PROTEASE INHIBITORS

Zhukova A.A.

The results of experimental research of reperfusion injury complicated by blood loss and correction of this state it was presented. Application of protease inhibitors and antioxidants for the correction of reperfusion injury complicated by blood loss cause the normalization of indexes the proteinase-inhibitor system of blood and bronchoalveolar lavage fluid of rats.

Keywords: reperfusion injury, blood loss, protease inhibitors, antioxidants.

Впервые поступила в редакцию 11.05.2013 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК: 616.381-002:616-08:615.373.3+615.35-(599.323.4)

ПРОТЕОЛИЗ И СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕИНАЗ И АНТИОКСИДАНТОВ В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПЕРИТОНИТА

Ермола Ю.А., Кубышкин А.В.

Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского, г. Симферополь

В статье проведен анализ эффективности сочетанного применения ингибиторов протеиназ и антиоксидантов при моделировании экспериментального перитонита в перитонеальном содержимом, сыворотке крови и бронхоальвеолярном смыве. Установлено, что развивающийся дисбаланс неспецифических протеиназ и их инги-