

ВЛИЯНИЕ МЕКСИДОЛА НА СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ РЕСПИРАТОРНОМ ДИСТРЕСС-СИНДРОМЕ

Г.Г. Макиев

студент, Северо-Осетинская государственная медицинская академия (г. Владикавказ)

А.Е. Гурина

к.м.н., доцент, Северо-Осетинская государственная медицинская академия (г. Владикавказ)

Н.А. Габолаева

ассистент, Северо-Осетинская государственная медицинская академия (г. Владикавказ)

E-mail: nadejdagabolaeva@yandex.ru

Изучено влияние препарата мексидол на состояние про- и антиоксидантной систем у крыс с экспериментальным острым респираторным дистресс-синдромом. Отмечено снижение активности процессов липопероксидации, уменьшение степени развития патологии и продление времени визуализации дыхательных движений у экспериментальных животных.

Ключевые слова: острый респираторный дистресс-синдром, антиоксидантная защита, перекисное окисление липидов, мексидол, адреналин.

Для цитирования: Макиев Г.Г., Гурина А.Е., Габолаева Н.А. Влияние мексидола на состояние про- и антиоксидантной систем при экспериментальном остром респираторном дистресс-синдроме. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018;21(8):52–57. <https://doi.org/10.29296/25877313-2018-08-08>

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) – острое, диффузное, воспалительное поражение легких, ведущее к увеличению их массы, повышению проницаемости сосудов легких и снижению аэрации легочной ткани [1, 2]. Одним из его основных проявлений является некардиогенный мембранный отёк лёгких [3, 4]. Этот синдром по-прежнему остаётся одним из самых малоизученных патологических состояний. Сложность в классификации ОРДС и множество этиологических факторов ведут к проблемам в понимании патогенеза и отсутствию специфического лечения.

Несмотря на целый ряд причин ОРДС, основной механизм его развития един. Биохимические аспекты развития данного процесса многообразны. Особая роль в развитии патологии отводится активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). При остром респираторном дистресс-синдроме в результате тканевой гипоксии в макрофагах, лейкоцитах и эндотелиальных клетках усиливается образование активных форм кислорода (АФК): перекиси водорода, гидроксид-радикала и супероксид-аниона, что способствует активации липопероксидации, которая оказывает прямое повреждающее действие преимущественно на эндотелий стенки сосудов – происходит повышение её проницаемости. Результатом является выпот жидкой части крови в лёгочную ткань. Вследствие де-

грануляции гранулоцитов повышается содержание ряда биологически активных веществ, в частности гистамина, который усиливает бронхоспазм и посткапиллярную вазоконстрикцию. Это, в свою очередь, приводит к увеличению давления заклинивания в лёгочных капиллярах (ДЗЛК) и ещё более интенсивному выходу жидкости в интерстициальную ткань [4]. Далее процесс переходит из экссудативной фазы в пролиферативную, а затем – в фибротическую.

На сегодняшний день не существует общепринятой фармакологической терапии. Рекомендовано использовать ингаляционно оксид азота, простациклин, а также глюкокортикостероиды и антиоксиданты без указания определённых препаратов [1]. Целесообразность использования глюкокортикостероидов до сих пор остаётся под вопросом, так как их эффективность в экссудативной фазе ОРДС фактически отсутствует, несмотря на их теоретическую роль – действие на воспалительные цитокины. Кроме того, наблюдается повышенный риск развития инфекционных осложнений. Антиоксиданты же допустимо использовать в связи с вышеизложенной ролью активации процессов ПОЛ в развитие патологии. Наиболее широко применяют предшественники глутатиона – N-ацетилцистеин и процистеин для восполнения его запасов. Однако это никак не влияет на выжи-

ваемость больных [5]. Таким образом, ввиду отсутствия достаточного количества информации о патогенезе и специфического лечения проблема рациональной терапии ОРДС является актуальной в настоящее время.

В качестве антиоксидантного средства был выбран препарат «Мексидол», поскольку он также обладает антигипоксикантным и стрессопротекторным действием, является стабилизатором клеточных мембран. Это наиболее рационально при лечении ОРДС, так как в его основе лежит гипоксия. Кроме того, экспериментально показано, что на ранних этапах развития данной патологии мексидол повышает уровень сатурации гемоглобина и препятствует угнетению дыхания [6].

Цель исследования – изучение процессов ПОЛ по содержанию малонового диальдегида (МДА), гидроперекисей (ГП) и изменений активности ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ): каталазы, супероксиддисмутазы (СОД) у крыс с экспериментальным острым респираторным дистресс-синдромом при введении антиоксиданта – мексидола; оценка воздействия данного препарата на степень развития патологии по лёгочному коэффициенту (ЛК) и морфогистологической картине лёгких, а также возможного влияния на время жизни животных в зависимости от времени визуализации дыхательных движений.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на 40 белых крысах-самках линии Wistar, массой 170–190 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении со свободным доступом к воде и пище. При проведении работы руководствовались Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 267).

В качестве экспериментальной модели ОРДС использовали методику создания некардиогенного мембранного отёка лёгких путём внутрибрюшинного введения 0,1%-ного раствора адреналина в дозе 15 мг/кг (по методике А.Х. Коган и др.; Ф.Е. Бурбелло). Данная методика максимально приближена к синдрому, поскольку непосредственно при этом виде отёке лёгких, как и при ОРДС, происходит первичное повышение проницаемости капилляров лёгких, а увеличение внутрикапиллярного гидростатического давления носит второстепенный характер [3, 4].

Крысы были разделены на четыре группы по 10 животных: I группа – контрольная; II группа – с экспериментальным ОРДС (т.е. с мембранным некардиогенным отёком лёгких); III группа – с внутрибрюшинным введением мексидола в дозе 200 мг/кг и дальнейшим моделированием экспериментального ОРДС; IV группа – с внутрибрюшинным введением мексидола в дозе 400 мг/кг и дальнейшим моделированием экспериментального ОРДС. Данные дозы препарата были выбраны, потому, что они приблизительно соответствуют 1/2 и 1/4 от полулетальной дозы для крыс, равной, согласно общедоступным данным, 820 мг/кг (ЛД₅₀). В связи с быстро нарастающими изменениями и коротким временем жизни у крыс с экспериментальной патологией (II группа) мексидол вводили до моделирования патологии для наиболее эффективного активирования звеньев АОЗ. Время введения препарата определяли в зависимости от времени достижения максимальной концентрации в плазме, равной для крыс 3 ч. Животных использовали в острых опытах, выводили из эксперимента путём передозировки анестезирующих препаратов (золетил в дозировке 0,4 мл внутрибрюшинно).

В процессе работы осуществляли фиксирование времени прекращения визуализации дыхательных движений; вскрытие грудной клетки с забором крови из полостей сердца и извлечением лёгких. Во всех группах проводили визуальную оценку лёгких; морфогистологическое исследование ткани лёгких с использованием окраски гематоксилин-эозином; вычисляли лёгочный коэффициент по формуле

$$\text{ЛК} = \frac{\text{масса лёгких}}{\text{масса крысы}} \times 100\%.$$

Оценены изменения показателей ПОЛ и АОЗ у всех групп: состояние АОЗ характеризовали по изменению активности ферментов каталазы и СОД, об интенсивности процессов ПОЛ судили по концентрации первичных (ГП) и вторичных (МДА) продуктов окисления. В эритроцитах определяли активность каталазы по методу E. Beutler; СОД [7], содержание МДА [8], ГП в плазме – по В.Б. Гаврилову, А.Р. Гавриловой и Л.М. Мажуль [7]. Статистический анализ данных проводили с использованием электронных таблиц MS Excel. Количественные показатели описывали в терминах среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$), достоверность различия между группами оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В эксперименте отёк лёгких идентифицировался визуально – лёгкие розовато-красного цвета, с геморрагическими пятнами и очаговыми кровоизлияниями, в трахее – наличие пены. Интенсивность развития патологии оценена по степени развития отёка в зависимости от морфогистологической картины и по ЛК, который у II группы крыс (при экспериментальном ОРДС) в 2,25 раз больше этого значения у I группы (контрольной). У III и IV групп (при введении мексидола в дозе 200 и 400 мг/кг соответственно и моделировании экспериментального ОРДС) это значение выше в 2,04 и 1,86 раз соответственно. Повышение его говорит о выходе крови в лёгочную ткань.

В результате исследования показателей ПОЛ и АОЗ у II группы было доказано, что при ОРДС происходит активация процессов перекисного

окисления липидов, о чём свидетельствует повышение содержания МДА на 21,33% (с $30,22 \pm 1,83$ мкмоль/л до $36,67 \pm 1,25$ мкмоль/л, $p < 0,001$) и ГП на 53,41% (с $3,04 \pm 0,25$ мкмоль/л до $4,66 \pm 0,47$ мкмоль/л, $p < 0,001$) у II группы по сравнению с I. Одновременно отмечена активация антиоксидантной защиты: СОД в 1,15 (с $74,61 \pm 1,35$ ед. акт. до $85,65 \pm 2,17$ ед. акт., $p < 0,001$) и каталазы в 1,33 раз (с $8,68 \pm 1,1$ МЕ/гНб $\times 10^4$ до $11,51 \pm 1,55$ МЕ/гНб $\times 10^4$, $p < 0,001$) у II группы по сравнению с I группой (таблица), что можно объяснить их индуцированием АФК и рассматривать как компенсаторную реакцию организма в результате развития патологии.

Выраженное фармакологическое действие мексидола благоприятно сказалось на развитии ОРДС, тяжести его проявлений и времени визуализации дыхательных движений у крыс.

Таблица. Влияние мексидола на состояние про- и антиоксидантной систем при экспериментальном остром респираторном дистресс-синдроме ($M \pm m$)

Группа	Гидроперекиси, мкмоль/л	Малоновый диальдегид, мкмоль/л	Каталаза, (МЕ/гНб $\times 10^4$)	Супероксиддисмутаза, ед. акт.
I	$3,04 \pm 0,25$	$30,22 \pm 1,83$	$8,68 \pm 1,1$	$74,61 \pm 1,35$
II	$4,66 \pm 0,47^{m1}$	$36,67 \pm 1,25^{m1}$	$11,51 \pm 1,55^{m1}$	$85,65 \pm 2,17^{m1}$
III	$3,67 \pm 0,22^{m1 2}$	$33,2 \pm 1,98^{n1 2}$	$10,39 \pm 0,92^{n1 2}$	$87,57 \pm 1,5^{m1 2}$
IV	$2,94 \pm 0,31^{n1 m2}$	$28,33 \pm 1,41^{n1 m2}$	$9,81 \pm 0,75^{n1 2}$	$90,01 \pm 1,92^{m1 2}$

Примечания: различия считались достоверными при вероятности ошибки $p < 0,05$; $^{n1}p < 0,05$; $^{m1}p < 0,01$; $^{m2}p < 0,001$ – достоверное изменение по сравнению с I группой; $^{n2}p < 0,05$; $^{m2}p < 0,01$; $^{m3}p < 0,001$ – достоверное изменение по сравнению с II группой; $^*p > 0,05$ – недостоверное изменение.

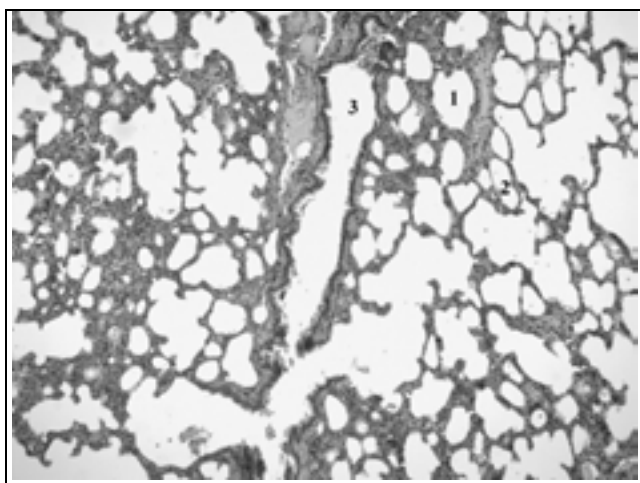


Рис. 1. Морфогистологическая картина лёгких – I группа (x150): 1 – альвеолы; 2 – межальвеолярные перегородки, 3 – бронх. Окраска Н&Е

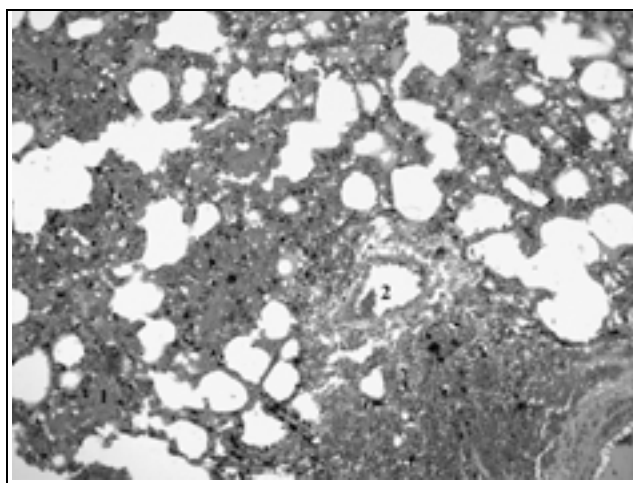


Рис. 2. Морфогистологическая картина лёгких при экспериментальном остром респираторном дистресс-синдроме на крысах – II группа (x150): 1 – отёчная жидкость в альвеолах; 2 – кровь в сосуде. Окраска Н&Е

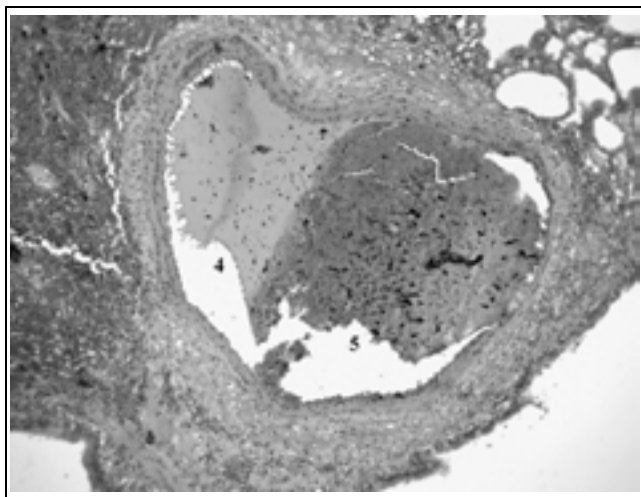


Рис. 3. Морфогистологическая картина лёгких при экспериментальном остром респираторном дистресс-синдроме на крысах – II группа (x150): 4 – отёчная жидкость в просвете бронха; 5 – кровь. Окраска Н&Е

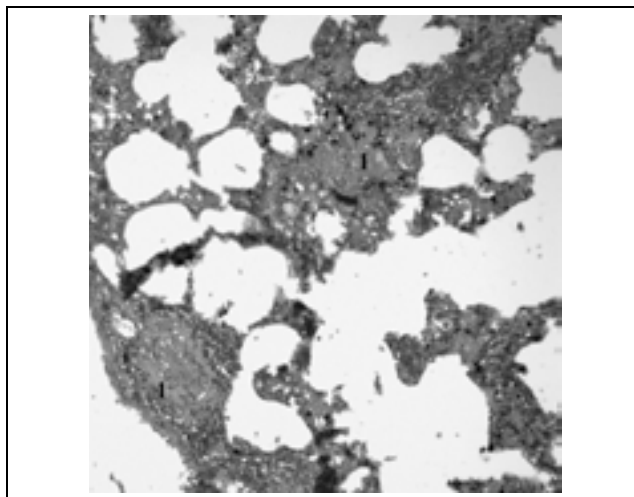


Рис. 4. Морфогистологическая картина лёгких при коррекции мексидолом в дозе 200 мг/кг и моделированием экспериментального острого респираторного дистресс-синдрома на крысах – III группа (x150): 1 – отёчная жидкость (степень развития патологии по признакам отёка лёгких меньше, чем во II группе). Окраска Н&Е

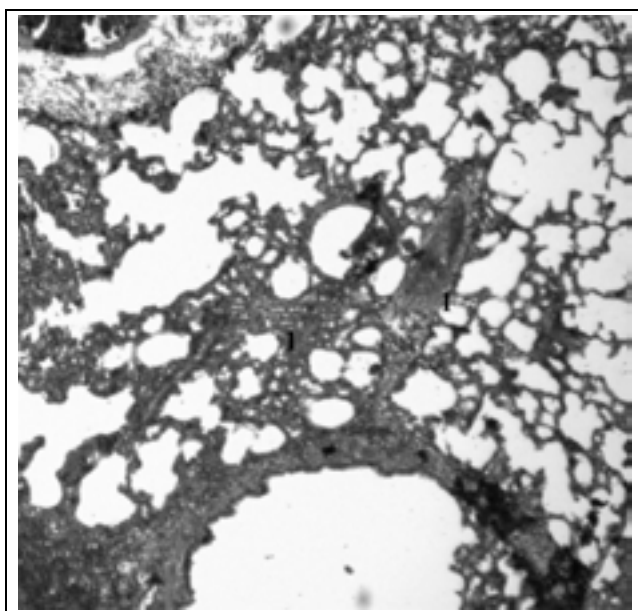


Рис. 5. Морфогистологическая картина лёгких при коррекции мексидолом в дозе 400 мг/кг и моделированием экспериментального острого респираторного дистресс-синдрома на крысах – IV группа (x80): 1 – отёчная жидкость (степень развития патологии по признакам отёка лёгких меньше, чем во II и III группах). Окраска Н&Е

В IV группе животных, которым введён препарат в дозе 400 мг/кг, наблюдается статистически достоверное понижение содержания МДА на 29,43% (с $36,67 \pm 1,25$ мкмоль/л до $28,33 \pm 1,41$ мкмоль/л, $p < 0,001$) и ГП на 58,55% (с $4,66 \pm 0,47$ мкмоль/л до $2,94 \pm 0,31$ мкмоль/л, $p < 0,001$); уменьшение активности каталазы в 1,17 раз (с

$11,51 \pm 1,55$ МЕ/гНб $\times 10^4$ до $9,81 \pm 0,75$ МЕ/гНб $\times 10^4$, $p < 0,05$) относительно II группы. Однако значение активности каталазы остаётся выше, чем в контрольной группе. Это говорит о снижении токсического действия АФК. Также отмечается повышение активности СОД в 1,05 раза (с $85,65 \pm 2,17$ ед. акт. до $90,01 \pm 1,92$ ед. акт., $p < 0,001$) относительно II группы, что является одним из характерных эффектов данного препарата.

Результаты в III группе после коррекции мексидолом в дозе 200 мг/кг аналогичны вышеизложенным, но менее выражены: снижение содержания МДА на 10,46% (с $36,67 \pm 1,25$ мкмоль/л до $33,2 \pm 1,98$ мкмоль/л, $p < 0,01$), ГП на 26,96% (с $4,66 \pm 0,47$ мкмоль/л до $3,67 \pm 0,22$ мкмоль/л, $p < 0,001$), понижение активности каталазы в 1,11 раз (с $11,51 \pm 1,55$ МЕ/гНб $\times 10^4$ до $10,39 \pm 0,92$ МЕ/гНб $\times 10^4$, $p < 0,05$), повышение активности СОД в 1,02 раз (с $85,65 \pm 2,17$ ед. акт. до $87,57 \pm 1,5$ ед. акт., $p < 0,05$) по сравнению с II группой (таблица). Изменения всех показателей являются статистически достоверными.

Полученные данные изменения показателей про- и антиоксидантных систем, степени развития отёка (рис. 4 и 5) при коррекции разными дозами мексидола дают основания утверждать, что при дозе 400 мг/кг интенсивность развития патологии выражена гораздо меньше, чем при дозе 200 мг/кг. Это свидетельствует о соразмерности степени развития ОРДС и дозы данного препарата.

В экспериментальном исследовании было обнаружено также влияние мексидола на продолжительность жизни у крыс с ОРДС. Время визуализации дыхательных движений у III группы увеличилось на 26% (с 20 мин. до 25,2 мин., $p < 0,05$), а у IV группы – на 65,5% (с 20 мин. до 33,1 мин., $p < 0,05$).

Морфогистологически отмечается выраженный отёк интерстиция. В альвеолах наблюдается отёчная эозинофильная жидкость с небольшим количеством других полиморфноядерных лейкоцитов – альвеолярный отёк (рис. 1 и 2). Повышение содержания именно эозинофилов часто встречается при заболеваниях органов дыхания, кроме того, это может быть специфической реакцией на введённый адреналин. В некоторых областях альвеолярный отёк визуализируется как отёк с примесью крови, что является доказательством повреждения капилляров альвеолярных перегородок. В просвете бронхов также наблюдается отёчная жидкость с примесью крови (рис. 3). Отмечается застойное полнокровие микрососудов, преимущественно венул и мелких вен.

ВЫВОДЫ

1. Доказано, что при ОРДС происходит активация про- и антиоксидантной систем, о чём свидетельствует увеличение уровня продуктов ПОЛ и ответное изменение активности ферментов АОЗ.
2. Выявлено, что коррекция мексидолом приводит к подавлению процессов ПОЛ, проявляющемуся снижением концентрации первичных и вторичных его продуктов: ГП и МДА. Также наблюдается повышение активности СОД и снижение активности каталазы относительно патологии, говорящее о уменьшении токсического действия АФК.
3. Показана прямая зависимость дозы мексидола и степени развития ОРДС, характеризованной по морфогистологической картине и ЛК.

4. Мексидол в условиях экспериментального острого респираторного дистресс-синдрома, моделируемого на крысах, оказывает мощное антигипоксикантное и антиоксидантное действие, способствующее снижению повреждающего воздействия АФК. Это ведёт к значительному продлению, времени визуализации дыхательных движений, что даёт основание говорить и о продлении времени жизни экспериментальных животных.
5. С целью защиты клеток от избыточного накопления АФК и снижения активности ПОЛ при ОРДС и при состояниях, приводящих непосредственно к развитию этого синдрома (принятых ESICM в 2012 г.), вероятнее всего, наиболее продуктивно применение мексидола. Это подтверждает целесообразность дальнейших клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ranieri V.M., Rubenfeld G.D., Thompson B.T., Ferguson N.D.* Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition // *Journal of the American Medical Association, Am. Med. Ass.* 2012. P. 23–307.
2. *Fanelli V., Ranieri V.M.* Mechanisms and clinical consequences of acute lung injury // *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2015. № 12. P. 1–8.
3. *Кассиль В.Л., Сапичева Ю.Ю.* Острый респираторный дистресс-синдром и гипоксемия. М.: МЕДпресс-информ. 2016. С. 9.
4. *Кассиль В.Л.* Острый внелёгочный респираторный дистресс-синдром: определение, этиопатогенез, клинические и лабораторные проявления // *Клиническая онкогематология.* 2011. № 4. P. 1–54.
5. *Грицай А.И., Ярошецкий А.И.* Диагностика и интенсивная терапия острого респираторного дистресс-синдрома. М., 2015. С. 38.
6. *Куликов О.А., Хасан И.А. М., Агеев В.П., Долгачёва И.С., Марочкина Е.Э.* Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на функцию лёгких при экспериментальном остром респираторном дистресс-синдроме // *Здоровье и образование в XXI веке.* 2016. № 18. С. 2–580.
7. *Данилова Л.А.* Справочник по лабораторным методам исследования. СПб: Питер. 2003. 733 с.
8. *Камышников В.С.* Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Минск: Интерпрессервис. 2003. С. 463–2.

Поступила 2 апреля 2018 г.

INFLUENCE OF MEXIDOL ON CONDITION OF PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEMS IN EXPERIMENTAL ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME

© Authors 2018

Makiev G.G.

Student, North Ossetian State Medical Academy (Vladikavkaz)

Gurina A.E.

Ph.D. (Med.), Associate Professor, North Ossetian State Medical Academy (Vladikavkaz)

Gabolaeva N.A.

Assistant, North Ossetian State Medical Academy (Vladikavkaz)

E-mail: selectionvilar@yandex.ru

A study was conducted for the influence of mexidol on the condition of pro- and antioxidant systems in rats with an experimental acute respiratory distress syndrome (ARDS). The processes of lipid peroxidation (LPO) by malondialdehyde (MDA) and hydroperoxides content, change in enzyme activity of the antioxidant protection (AOP): catalase, superoxide dismutase (SOD) and degree of disease development were assessed in the experiment.

The ARDS model was created by an intraperitoneal injection of 0.1% adrenaline solution at a dose of 15 mg/kg. The rats were divided into 4 groups: I-control; II- with experimental ARDS; III and IV - with intraperitoneal injection of mexidol at a dose of 200 and 400 mg/kg, respectively, and further modeling of the ARDS. The pulmonary edema was identified visually and by the morpho-histological characterization.

During the experiment it was proved that LPO processes and AOP are activated in this pathology. There has been a decrease of the MDA content by 29,43%, hydroperoxides content by 58,55%, catalase activity lower by a factor of 1,17 with a dose of 400 mg/kg. However, the value of catalase activity remains higher than in the control group. This indicates a reduction in the toxic effect of reactive oxygen species (ROS). There has been an increase in the activity of SOD by a factor of 1,05 regarding II, which is one of the effects of mexidol. The results after correction by drug in a dose of 200 mg/kg are similar, but less pronounced. In addition it was detected that mexidol affects the lifetime: it increased by 26% in III and by 65.5% in IV.

Thus, mexidol under the experimental ARDS has a powerful antihypoxic and antioxidant effect contributing to reducing the damaging effects of ROS and LPO intensity. This leads to a significant extension of the lifetime. There is no this effect in other drugs used for this syndrome.

Key words: acute respiratory distress syndrome, antioxidant protection, lipid peroxidation, mexidol, adrenaline.

For citation: Makiev G.G., Gurina A.E., Gabolaeva N.A. The influence of mexidol on condition of pro- and antioxidant systems in experimental acute respiratory distress syndrome. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2018;21(8):52-57. <https://doi.org/10.29296/25877313-2018-08-08>

REFERENCES

1. Ranieri V.M., Rubenfeld G.D., Thompson B.T., Ferguson N.D. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition // Journal of the American Medical Association, Am. Med. Ass. 2012. P. 23-307.
2. Fanelli V., Ranieri, V.M. Mechanisms and clinical consequences of acute lung injury // Ann. Am. Thorac. Soc. 2015. № 12. P. 1-8.
3. Kassil' V.L., Sapicheva Yu.Yu. Ostryj respiratornyj distress-sindrom igipoksemiya. M.: MEDpress-inform. 2016. S. 9.
4. Kassil' V.L. Ostryj vnelogichnyj respiratornyj dis-tress-sindrom: opredelenie, ehtiotogenez, klinicheskie i laboratornye proyavleniya // Klinicheskaya onko-gematologiya. 2011. № 4. R. 1-54.
5. Gricaj A.I., YArosheckij A.I. Diagnostika i intensiv-naya terapiya ostrogo respiratornogo listress-sindroma. M., 2015. S. 38.
6. Kulikov O.A., Hasan I.A. M., Ageev V.P., Dolgachyova I.S., Marochkina E.Eh. Vliyanie ehtilmetilgidroksipiridina sukcinata na funkciyu lyogkih pri ehksperimental'nom ostrom respiratornom distress-sindrome // Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke. 2016. № 18. S. 2-580.
7. Danilova L.A. Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniya. SPb: Piter. 2003. 733 s.
8. Kamyshnikov V.S. Kliniko-biohimicheskaya laborator-naya diagnostika. Minsk: Interpresservis. 2003. S. 463-2.