

ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ОПІКОВІЙ ХВОРОБИ В СТАДІЇ ТОКСЕМІЇ

Я. Б. РАЄЦЬКА

ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка,
Кафедра біохімії, 03127 Київ, Україна, пр-т Глушкова 2/12
e-mail: raetska@ya.ru

Досліджено, що при моделюванні лужного опіку стравоходу 2 ступеня у статевонезрілих щурів відбувся синдром ендогенної інтоксикації. Показано зростання токсинів різної природи: специфічних, неспецифічних та медіаторів імунних реакцій (підвищення рівню олігопептидів на 34,8%, МСМ на 17%, ІЛ-10 на 4%, та зниження рівню ІЛ-4 на 11%), які пов'язують з високим ризиком септичних ускладнень після опіків. Нами було встановлено, що різноманітні за походженням токсичні речовини діють на всіх рівнях організму. Настають значні множинні патологічні порушення в організмі, а саме: водно-сольового обміну (рівень калію підвищувався на 60%, натрію, хлору та кальцію знижувався на 6%, 8% та 19%), пригнічення функцій печінки та функцій нирок (знижувався вміст загального білка, альбуміну на 36,7%, 37%, зростала активність АСТ, АЛТ на 21%, 182% та підвищувався рівень сечовини, креатиніну, креатинінкінази на 92%, 65%, 83%). Таким чином, від антитоксичних механізмів залежить ступінь вираженості синдрому ендогенної інтоксикації. При нормальному функціонуванні захисних механізмів організм здатний протистояти токсинам. В наших дослідженнях було показано, що у статевонезрілих щурів за умов моделювання ЛОС 2 ступеня захисні механізми (антитоксичні і регуляторні системи) не справляються і в організмі наростає вміст ендогенних токсинів, що на тлі порушень функцій імунної системи призводить до зниження резистентності організму. Тому, доцільною є імунологічна і метаболічна корекція в лікуванні опікових хворих за умов хімічного опіку стравоходу 2 ступеню.

Ключові слова: лужний опік стравоходу, синдром ендогенної інтоксикації

Вступ. Токсемія – це друга стадія опікової хвороби, яка починається після закінчення стадії опікового шоку і триває 8-9 днів (Фисталь, 2005). Навіть при незначних хімічних опіках стравоходу у дітей залишається висока ймовірність ризику розвитку стадії токсемії. У клінічному стані на перше місце при токсемії виходить синдром ендогенної інтоксикації (СЕІ), обумовленого надходженням в кров біологічно-активних речовин, токсинів, мікробів, з характерним фазовим перебігом - від початкової токсемії до ендотоксикозу (Фисталь, 2005; Kozinets, 2012). Токсичні продукти, проникаючи в організм викликають порушення метаболізму. При цьому глибокі розлади регуляції провідних функцій організму ведуть до пошкодження біологічних бар'єрів і процесу всмоктування в шлунково-кишковий тракт, що в кінцевому результаті веде до значної дезінтеграції діяльності організму (Kozinets, 2012; Matveev, 2013).

Більша частина постраждалих при опіках гине від ендогенної інтоксикації, яка є одним з найважливіших критеріїв, що визначають важкість стану людини. Більшість авторів молекули середньої маси (МСМ), олігопептиди (ОП) розглядають, як універсальний маркер ендогенної інтоксикації. Незважаючи на великий обсяг досліджень даної проблематики

недостатньо вивчені питання СЕІ за умов розвитку хімічного опіку стравоходу у дітей, найчастіше відбувається механічне перенесення закономірностей перебігу опікової хвороби у дорослих в дитячу клініку.

Тому, метою даної роботи було вивчення маркерів ендогенної інтоксикації та окремих біохімічних показників у сироватці крові статевонезрілих щурів за умов моделювання хімічного опіку стравоходу 2 ступеню в стадії токсемії.

Матеріали і методи. У дослідах використовували білих нелінійних статевонезрілих щурів (1-місячних) масою 90–110г (відповідають 1-4-річному віку дітей) із дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 р.), інших міжнародних угод і національного законодавства в цій галузі. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію. Їм експериментально моделювали лужний опік стравоходу (ЛОС) 2 ступеня розчином NaOH 20 % (Раєцька, 2014). Сироватку для дослідження відбирали на 7 добу, яка відповідає стадії токсемії опікової хвороби (Фисталь, 2005). Методом виведення тварин із досліду була цервікальна дислокація. Біохімічні показники

визначали в сироватці крові, яку отримували центрифугуванням крові при $2000g \times 40$ хв. Показники крові (сечовина, креатинін, креатинінкіназа, K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , Ca^{2+}) визначали за допомогою біохімічного аналізатора Humalyser 3000 з використанням відповідних наборів. Вміст МСМ та концентрацію олігопептидів визначали за модифікованим методом Габриляян. Рівень цитокінів (інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-10) у сироватці крові піддослідних тварин визначали методом імуноферментного аналізу з використанням наборів реактивів Biotrak ELISA System фірми «Healthcare» згідно з інструкціями. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та кореляційного аналізу з використанням комп'ютерної програми Excel. Для визначення достовірності відмінностей між двома вибірками використовували критерій Стьюдента (t). При цьому достовірними вважались різниці $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Аналіз проведених досліджень показав, що ЛОС призводить до розвитку опікової хвороби, яка викликає порушення всіх обмінних процесів. Попередньо, в наших роботах (Раєцька, 2014) було досліджено вміст загального білка та альбуміну в сироватці крові щурів після моделювання ЛОС 2 ступеня, який знижувався на 36,7% та на 37% порівняно з контрольними значеннями. Також були досліджені біохімічні показники АСТ, АЛТ, які можуть характеризувати функціональні зміни печінки, показано зростання на 21 %, 182 % відповідно на 7 добу експерименту (Раєцька, 2014).

В ході дослідження сироватки крові статевонезрілих щурів за умов моделювання хімічного опіку стравоходу 2 ступеню в стадії

токсемії ми спостерігали суттєві порушення азотистого обміну. Відбувалось підвищення таких показників, як сечовина, креатинін, креатинінкіназа на 92%, 65%, 83% відповідно, порівняно з контрольними значеннями (табл. 1).

Виявлено порушення водно-електролітного балансу, яке характеризується значними позанирковими втратами рідини. Для опікової хвороби характерне підвищення рівня калію в судинному руслі (Шлапак, 2015; Регеди, 2011). Нами було досліджено, що рівень калію підвищувався на 60 % порівняно з контрольними значеннями (табл. 1).

Натрій підтримує постійно існуючу рівновагу між іонами електролітів, він разом із водою входить в клітини, викликаючи їх набряк, настає клітинна гіпергідратація спочатку в ділянці опіку, а потім і поза ним. Одночасно проходить переміщення іонів натрію в позаклітинний простір вогнища ураження, викликаючи накопичення значної кількості рідини, збільшення набряку, а також переміщення іонів натрію в непошкоджені клітини (Фисталь, 2015; Шлапак, 2015; Сухомлин, 2015). Все це призводить до зменшення вмісту натрію, що і було нами показано. Рівень натрію, хлору та кальцію знижувався на 6 %, 8 % та 19 % відповідно, порівняно з контрольними значеннями за умов моделювання опіку (табл. 1).

Встановлені зміни за умов моделювання ЛОС 2 ступеня в стадії токсемії вказують на суттєві порушення водно-солевого, азотистого обміну та біохімічних показників функціонування печінки.

При інтоксикації розрізняють токсини різної природи: специфічні, неспецифічні, медіатори імунних реакцій та ін.

Таблиця 1.
Біохімічні параметри сироватки крові щурів за умов експериментального моделювання лужного опіку стравоходу 2 ступеня в стадії токсемії ($M \pm m$, $n=10$)

Table 1.
Biochemical parameters of blood serum of rats under the experimental modeling of alkali esophageal burns of 2nd degree in the stage of toxemia ($M \pm m$, $n=10$)

Показники	Групи	Контроль	ЛОС 2 ступеня
Сечовина, (ммоль/л)		8,9±0,11	17,1±0,7*
Креатинін, (мкмоль/л)		88,0±3,9	145,01±2,1*
Креатинкіназа		191,4±0,83	350,8±1,35*
K^+ , (ммоль/л)		5,0±0,3	8,0±0,5*
Na^+ , (ммоль/л)		156,2±0,5	148±0,7*
Cl^- , (ммоль/л)		110±0,4	101,8±0,9*
Ca^{2+} , (ммоль/л)		10,6±0,1	8,6±0,9*

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем

Специфічні токсини, які надходять з опікової рани є за своїм походженням денатурованими білками, фрагментами білкових молекул та комплексами ферментів з їх інгібіторами (Фисталь, 2005; Kozinets, 2012; Поликарпова, 2011). В ході дослідження опіку стравоходу встановлено підвищений рівень специфічних токсинів, а саме олігопептидів на 34,8% порівняно з контрольними значеннями (табл. 2).

До неспецифічних токсинів відносять МСМ, що утворюються при протеолітичному розщепленні білків плазми, біогенні аміни, компоненти кінінової системи, простагландини, ендоперекиси ліпідів, гідролази клітинного походження та ін. Рівень цих речовин є скринінгом азотемії, показником ступеня інтоксикації, уремії, і в цілому характеризує функціональний стан нирок (Фисталь, 2005; Бондаренко, 2012). Аналіз проведених досліджень показав, що ЛОС викликає підвищення рівню МСМ на 17%, порівняно з контролем (табл. 2).

До токсинів мікробного походження, медіаторів імунних реакцій належать протизапальні інтерлейкіни – ІЛ-4, ІЛ-10, вони є антагоністами прозапальних цитокінів і володіють здатністю пригнічувати їх біологічну активність, зокрема, вони пригнічують проліферацію і відповідь Т-лімфоцитів на антигени, гальмують продукцію ІЛ-1, ФНП-α, оксиду азоту і простагландинів, зменшуючи, таким чином, запальні прояви (Ward, 1999). Групою дослідників встановлена прогностична роль підвищення концентрації ІЛ-10, особливо в перші 7 діб після опіку з виникненням і несприятливим результатом сепсису (Zhou, 2012). Саме високий рівень ІЛ-10 пов'язують з високим ризиком септичних ускладнень після опіків (Lyons, 1997; Поликарпова, 2011). Нами було встановлено, що за умов моделювання ЛОС

2 ступеня відбувалось підвищення рівню ІЛ-10 на 4 %, порівняно з контрольними значеннями (табл. 2).

Інші дослідники включають в критерії несприятливого результату при сепсисі підвищення концентрації ІЛ-6 (Pileri, 2008), одним з факторів підвищення ІЛ-6 при опіковій травмі є зниження концентрації ІЛ-4, тому рівень ІЛ-4 також розглядається як прогностичний фактор виникнення ускладнень (Messingham, 2002; Поликарпова, 2011; Mikhal'chik, 2009). В ході наших досліджень встановлено, що за умов моделювання ЛОС 2 ступеня відбувається достовірне зниження рівню ІЛ-4 на 11 %, порівняно з контролем (табл. 2). Отримані дані свідчать, що при моделюванні ЛОС 2 ступеня залишається ризик септичних ускладнень.

Нами було показано, що різноманітні за походженням токсичні речовини діють на всіх рівнях організму. Настають значні множинні патологічні порушення в організмі, а саме: водно-сольового обміну, пригнічення функцій печінки та функцій нирок.

Таким чином, від антитоксичних механізмів залежить ступінь вираженості СЕІ. При нормальному функціонуванні захисних механізмів організм здатний протистояти токсинам.

В наших дослідженнях було показано, що у статевонезрілих щурів за умов моделювання ЛОС 2 ступеня захисні механізми (антитоксичні і регуляторні системи) не справляються і в організмі наростає вміст ендогенних токсинів, що на тлі порушень функції імунної системи призводить до зниження резистентності організму.

Висновки. Отже, було досліджено, що при моделюванні лужного опіку стравоходу 2 ступеня у статевонезрілих щурів відбувався синдром ендогенної інтоксикації.

Таблиця 2.

Зміни вмісту маркерів ендогенної інтоксикації в крові щурів за умов експериментального моделювання лужного опіку стравоходу 2 ступеня в стадії токсемії (M±m, n=10)

Table 2.

Changes of the contents markers of endogenous intoxication in the blood of rats under the experimental modeling of alkali esophageal burns of 2nd degree in the stage of toxemia (M±m, n=10)

Показники	Групи	Контроль	ЛОС 2 ступеня
Олігопептиди (мг/мл)		0,23±0,02	0,31±0,05*
МСМ(ум.од)		0,24±0,01	0,28±0,01*
ІЛ-4 (ум.од.)		0,089±0,001	0,079±0,001*
ІЛ-10 (ум.од.)		0,078±0,006	0,081±0,0028

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем

Показано зростання токсинів різної природи: специфічних, неспецифічних та медіаторів імунних реакцій, які пов'язують з високим ризиком септичних ускладнень після опіків. Нами було встановлено, що різноманітні за походженням токсичні речовини діють на всіх рівнях організму. Настають значні множинні патологічні порушення в організмі, а саме: водно-сольового обміну, пригнічення функцій печінки та функцій нирок.

Список літератури:

1. Фисталь Э. Я., Козинец Г. П., Самойленко Г. Е., Носенко В.М., Фисталь Н.Н., Солошенко В. В. Комбустиология: Учебник. - Донецк, -2005.- 315 с.
2. Kozinets G. P., Osadchaia O. I., Tsygankov V. P., Isaenko N. P., Zhernov A. A., Boiarskaia A. M. Correction of metabolic hypoxia in patients with severe burn injury and septic toxemia// Klin. Khir.-2012- Vol. 12. – P. 38-42.
3. Matveev S. B., Smirnov S. V., Tazina E. V., Shakhlamov M. V., Godkov M. A., Borisov V. S. The dynamics of endogenic intoxication in patients with extensive burns // Klin. Lab. Diagn. – 2013- Vol. 2. – P. 10-12.
4. Расцька Я. Б., Іщук Т. В., Савчук О. М. Остапченко Л. І. Експериментальна модель лужного опіку I та II-го ступеню стравоходу у статевонезрілих щурів // Науковий вісник Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича. Біологія. – 2014. – Т.6. – С. 129-132.
5. Шлапак І. П., Галушко О. А.. Клінічна фізіологія водно-електролітного обміну // Академія инфузионной терапии. Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2015. – № 2. – С. 8-12.
6. Патологічна фізіологія /За ред. Проф. М.С.Регеди, проф. А.І.Березнякової. Підручник для студентів – Львів, Магнолія, 2011. – 490 с.
7. Сухомлин Т.А. Біохімічні зміни в тканинах легень за умов експериментальної опікової хвороби та їх корекція Ліпіном: дис. .. канд.мед.наук. Полтава, – 2015. – 118с.
8. Kozinets GP, Osadchaia OI, Tsygankov VP, Isaenko NP, Zhernov AA, Boiarskaia AM. Correction of metabolic hypoxia in patients with severe burn injury and septic toxemia/ Klin. Khir. – 2012. – Vol. 12. – P. 38-42.
9. Дмітрієва К.Ю. Показники ендогенної інтоксикації, оксидативного та нітрозативного стресів при опіках шкіри у щурів за умов застосування мексидолу і триметазидину// Медична хімія. -2004. –Т. 6, №4. - С.77-80.
10. Бондаренко В.В., Нетюхайло Л.Г., Аветіков Д.С. Молекули середньої маси в тканинах слинних залоз при експериментальній опіковій хворобі // Таврический медико-биологический вестник -2012- Т. 15, № 3-1. - С. 49-50
11. Ward P.A., Lentsch A.B. The acute inflammatory response and its regulation // Arch. Surg. – 1999. – №134. – P. 666– 669.
12. Zhou J., Tu J.J., Huangetal Y. Changes in serum contents of interleukin-6 and interleukin-10 and their relation with occurrence of sepsis and prognosis of severely burned patients // Zhonghua Shao Shang Za Zhi. – 2012. – Vol. 28 (2). – P. 111-115.
13. Major injury induces increased production of interleukin-10 by cells of the immune system with a negative impact on resistance to infection / Lyons A., Kelly J.L., Rodrick M.L. [et al.] // Ann. Surg. – 1997. – Vol. 226 (4). – P. 450-458.
14. Pileri D., Accardo Palombo A., D'Amelioetal L. Concentrations of cytokines IL-6 and IL-10 in plasma of burn patients: their relationship to sepsis and outcome // Ann. BurnsFireDisasters. – 2008. – Vol. 21 (4). – P. 182-185.
15. Messingham K.A., Heinrich S.A., Schillingetal E.M. Interleukin-4 treatment restores cellular immunity after ethanol exposure and burn injury // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2002. – Vol. 26 (4). – P. 519-526
16. Поликарпова А. В., Перский Е. Э.Сравнительное изучение динамики уровней провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при ожогах кожи различнойприроды // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія : Біологія. - 2011. - № 971, вип. 14. - С. 27-32.
17. Mikhal'chik E. V., Piterskaya J. A., Budkevich L. Y., Pen'kov L. Y., Facchiano A, De Luca C, Ibragimova G. A., Korkina L. G. .Comparative study of cytokine content in the plasma and wound exudate from children with severe burns // Bull Exp Biol Med.-2009. – Vol. 148 (5):771-5.

INDEXES OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN EXPERIMENTAL BURN DISEASE IN THE STAGE OF TOXEMIA

Y. B. Raetska

Researched the modeling esophageal alkali burns 2nd degrees in immature rats occurred syndrome of endogenous intoxication. Increased toxins of different nature, specific, and non-specific and mediators of immune responses (increased level of oligopeptides by 34.8% molecule of average weight (MAW) 17%, IL-10 by 4%, and decreased of IL-4 11%), which is associated with high risk of septic complications after burns. We found that the origin of various toxic substances act at all levels of the body. There have come a significant multiple pathological disturbances in the body, namely water-salt metabolism (potassium level increased by 60%, sodium chloride and calcium decreased by 6%, 8% and 19%), inhibition of the liver and kidney function (reduced total protein, albumin 36.7%, 37%, increased activity of AST, ALT in 21%, 182% and increased levels of urea, creatinine, creatine kinase 92%, 65%, 83%). So antitoxic mechanisms depends on the severity of syndrome endogenous intoxication (SEI). In the normal functioning of the protective mechanisms of the body is able to resist the toxins. In our researches it has been shown that immature rats under 2nd degrees modeling alkaline burn of the esophagus (ABE) protective mechanisms (antitoxic and regulatory system) can not cope in the body and increases the content of endogenous toxins on the background of dysfunction of the immune system leads to lower body resistance. Therefore, it is advisable to immunological and metabolic correction in the treatment of burn patients in the conditions of the esophagus chemical burns of 2nd degrees.

Keywords: alkaline burn the esophagus syndrome of endogenous intoxication

Одержано редколегією 21.09.2015