

ИЗУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛИПОСОМАЛЬНОГО АЦЕТИЛЦИСТЕИНА ПРИ ОСТРОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ЛЕГКИХ

О.А. Куликов^{1*}, кандидат медицинских наук, Е.Э. Марочкина¹,
И.С. Долгачева¹, Е.В. Семенова¹, кандидат медицинских наук,
А.В. Кокорев², кандидат медицинских наук,
Н.А. Пятаев¹, доктор медицинских наук, профессор

¹Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева;

Российская Федерация, 430005, Саранск, ул. Большевикская, д. 68

²Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» Минобрнауки России;
Российская Федерация, 249040, Обнинск, ул. Студгородок, д. 1

Введение. Стандартом лечения острого повреждения легких и острого респираторного дистресс-синдрома является использование глюкокортикостероидов, в частности дексаметазона. Липосомальные антиоксиданты, в том числе ацетилцистеин, по мнению некоторых авторов, способны снижать смертность при этих заболеваниях, однако оценки их эффективности по сравнению с дексаметазоном противоречивы.

Цель исследования – сравнение терапевтической эффективности дексаметазона и липосом с ацетилцистеином при их использовании в случае экзогенного острого повреждения легких.

Материал и методы. Моделирование острого повреждения легких осуществляли путем интратрахеального введения 0,1 мл/кг ацетона 3 группам белых беспородных крыс обоего пола массой 220–300 г. Животные 1-й группы являлись контролем, 2-я группа получала 0,4% раствор дексаметазона, 3-я – липосомальный ацетилцистеин (Л-АЦЦ). Эффективность сравниваемых методов терапии определяли по проценту выживших животных, сатурации гемоглобина и установлению легочного коэффициента. При статистической обработке результатов использовали t-критерий Стьюдента и критерий Хи-квадрат.

Результаты. Получены экспериментальные данные по динамике выживаемости и изменению сатурации гемоглобина у экспериментальных животных при остром повреждении легких при применении различных схем терапии (дексаметазон или липосомальный ацетилцистеин).

Заключение. Липосомальный ацетилцистеин эффективно снижает летальность при остром повреждении легких, повышает кислородонасыщение крови и уменьшает выраженность легочного отека. Липосомальный ацетилцистеин в сравнении с дексаметазоном не менее эффективен при остром экзогенном повреждении легких. Зарекомендовал себя как средство, улучшающее функцию дыхательной системы и снижающее смертность.

Ключевые слова: ацетилцистеин, липосомы, дексаметазон, острое повреждение легких.

*E-mail: oleg-kulikov-84@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Стандартом лечения острого повреждения легких (ОПЛ) и острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) является использование глюкокортикостероидов (ГКС). Липосомальные антиоксиданты, по мнению некоторых авторов, способны эффективно снижать смертность при ОПЛ и ОРДС [1]. В экспериментах на животных показано, что степень тяжести ОПЛ/ОРДС снижается при применении Л-АЦЦ [2,3]. Вместе с тем существуют исследования, в которых показана малая эффективность липосомальных антиоксидантов по сравнению с дексаметазоном [4]. Таким образом, вопрос эффективности и возможности использования липосомальных лекарственных форм для коррекции такой патологии, как ОПЛ и ОРДС, остается открытым.

Цель работы – сравнение терапевтической эффективности дексаметазона и липосом с ацетилцистеином при лечении экзогенного острого повреждения легких.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Л-АЦЦ готовили по следующей методике: компоненты липидной оболочки (фосфатидилхолин – 90%, холестерол – 10%) растворяли в хлороформе, растворитель упаривали на ротаторном испарителе, а липидную пленку гидратировали препаратом «Флуимуцил» (раствор АЦЦ 100 мг/мл). Дисперсию мультиламеллярных везикул пропускали через поликарбонатный фильтр с диаметром пор 400 нм с помощью экстрадера LIPEX™. Л-АЦЦ от свободного АЦЦ отделяли гель-фильтрацией. Размеры липосом оценивали методом динамического светорассеяния на анализаторе NANO-flex. Средний размер полученных липосом со-

ставил 430 ± 40 нм. Количество включившегося в липосомы АЦЦ определяли спектрофотометрически по реакции с FeCl_3 и 1,10-фенантролином при длине волны 510 нм по предварительно построенному калибровочному графику. Для этого к водной взвеси Л-АЦЦ добавляли хлороформ, шейкировали и отстаивали для определения концентрации АЦЦ в водной фракции. Степень включения АЦЦ в липосомы составила $12,5 \pm 2,5\%$, массовое отношение липиды/АЦЦ – 3,039.

Моделирование ОПЛ проводили путем интратрахеального введения 0,1 мл/кг ацетона [5] белым беспородным крысам обоего пола массой 220–300 г (питомник «Столбовая» Научного центра биомедицинских технологий РАН). При моделировании ОПЛ крысы находились под уретановым внутривентральным наркозом (400 мг/кг). Все исследования выполняли с соблюдением норм и правил проведения экспериментов с участием животных (решение ЛЭК МГУ им. Н.П. Огарева от 12.07.2015 г., протокол № 72). 48 экспериментальных животных (30 самцов и 18 самок) разделили на 3 группы по 16 особей (10 самцов и 6 самок) в каждой. Крысам всех 3 групп после моделирования ОПЛ с целью профилактики инфекционных осложнений вводили цефтриаксон (порошок во флаконах, 1 г для приготовления раствора для внутримышечного и внутривенного введения) в дозе 100 мг/кг внутримышечно 1 раз в сутки в течение 6 дней. Животные 1-й группы (контроль) другого лечения не получали. Крысам 2-й группы через 20 мин после интратрахеального введения ацетона однократно внутривенно (в/в) в хвостовую вену вводили 0,4% раствор дексаметазона в дозе 6 мг/кг. Живот-

ным 3-й группы в/в однократно через 20 мин после моделирования ОПЛ вводили 0,5 мл Л-АЦЦ (средняя доза АЦЦ – 25 мг/кг).

Животные забивались на 7-е сутки после начала эксперимента под уретановым наркозом. Для оценки эффективности сравниваемых методов терапии на протяжении 6 сут от момента моделирования ОПЛ определяли процент выживших животных (выживаемость). При помощи аппарата Biopac Systems MP-150 у животных оценивали сатурацию гемоглобина (SpO_2). SpO_2 регистрировали до интратрахеального введения ацетона, через 1 ч, 24 ч и 6 сут после моделирования ОПЛ/ОРДС. Влияние исследуемых схем терапии на развитие легочного отека в результате ОПЛ оценивали на 20 отдельно взятых крысах и разбитых на вышеуказанные группы. Данные животные забивались через 24 ч и на 6-е сутки после моделирования ОПЛ под уретановым наркозом. У животных извлекались легкие и взвешивались с последующим определением легочного коэффициента (ЛК) по формуле: масса легких/масса животного $\cdot 1000 = \text{ед.}$ [6].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента и критерия Хи-квадрат. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спустя 24 ч 61,53% животных после аспирации ацетона и не получившие лечения погибли. В группе животных, которым вводили дексаметазон, летальность составила 30% (рис. 1). На 1-е сутки после введения Л-АЦЦ летальность составила 14,3%, что достоверно меньше, чем в контроле. На 2-е сутки наблюдения летальность во всех изучаемых группах возросла. В контрольной группе – до 76,9%, в группе с терапией дексаметазоном – до 40%, а после введения Л-АЦЦ – до 21,4%. На 3-и сутки все животные из контрольной группы погибли (см. рис. 1). На 3-и сутки возросла летальность и в группе с применением Л-АЦЦ до 28,6%, а летальность после введения дексаметазона не изменилась. При этом во 2-й и 3-й исследуемых группах уровень летальности был достоверно меньше, чем в контрольной группе. В последующий период наблюдения (4–6 сут) летальность в исследуемых группах не изменилась.

ЛК интактных крыс составил $7,01 \pm 0,19$ ед. На 1-е сутки в результате ОПЛ в контрольной

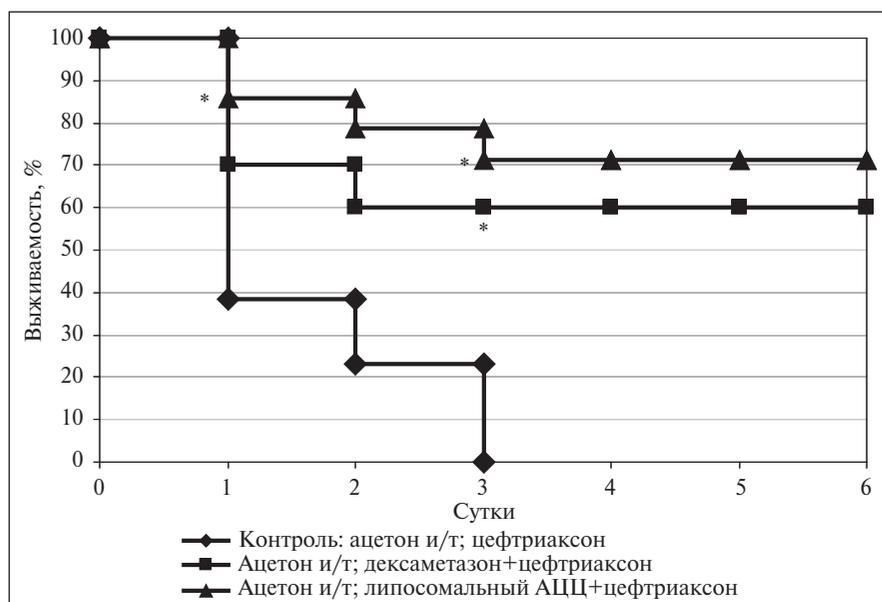


Рис. 1. Влияние дексаметазона и Л-АЦЦ на выживаемость экспериментальных животных при остром повреждении легких: * – достоверность различий по отношению к контрольной группе животных при $p < 0,05$

группе ЛК достоверно повышался до $13,25 \pm 1,2$ ед., что на 91,1% больше, чем у интактных животных. На 1-е сутки после моделирования патологии ЛК в группах с применением дексаметазона и Л-АЦЦ составил $8,55 \pm 1,06$ ед. и $8,5 \pm 0,61$ ед. соответственно, при этом ЛК не имел статистически значимых различий с таковым у интактных крыс и был достоверно меньше, чем у животных контрольной группы. На 6-е сутки эксперимента ЛК обеих групп животных, где использовались различные терапевтические схемы, был достоверно выше, чем у интактных животных. В группе с применением дексаметазона ЛК составил $11,12 \pm 0,5$ ед., что на 58% больше, чем у здоровых крыс. В группе животных, получавших Л-АЦЦ, после введения на 6-е сутки эксперимента ЛК составил $8,88 \pm 0,37$ ед. и был выше, чем у интактных крыс на 26,7%, но ниже, чем после введения дексаметазона на 20,1% ($p < 0,05$).

SpO_2 у животных в контрольной группе через 1 ч после аспирации ацетона снижалась с $95,76 \pm 0,63\%$ (до моделирования патологии) до $78,4 \pm 1,67\%$ ($p < 0,05$, рис. 2). После введения дексаметазона SpO_2 была ниже, чем у крыс в исходном состоянии ($96,4 \pm 1,0\%$), но выше, чем в контрольной группе и составила $86,8 \pm 2,16\%$ ($p < 0,05$). Введение Л-АЦЦ приводило к достоверному повышению уровня SpO_2 до $85,7 \pm 1,32\%$ через 1 ч после аспирационного повреждения легких по отношению к контрольной группе, однако это значение сатурации было ниже, чем у крыс до введения в трахею ацетона ($95,8 \pm 0,5\%$). Через 24 ч у выживших крыс после аспирации ацетона уровень SpO_2 оставался ниже исходного показателя и составил $86 \pm 5,3\%$ ($p < 0,05$, см. рис. 2). Через 1 сут после введения дексаметазона сатурация составила $94 \pm 1,34\%$, что статистически значимо не отличалось от исходно зарегистрированного значения у животных данной группы и от значения в контрольной группе.

Через 24 ч после введения Л-АЦЦ значение SpO_2 было достоверно ниже, чем у интактных животных этой группы и составило $88,3 \pm 1,91\%$. Данный показатель был статистически значимо ниже, чем в группе после применения дексаметазона. На 6-е сутки наблюдения величина SpO_2 крови у крыс, которым вводился дексаметазон, составила $85,8 \pm 1,32\%$, что достоверно ниже, чем у здоровых животных. На 6-е сутки уровень SpO_2 в группе с применением Л-АЦЦ составил $88,0 \pm 2,5\%$, что достоверно ниже, чем у животных исходно и достоверно не отличается от тако-

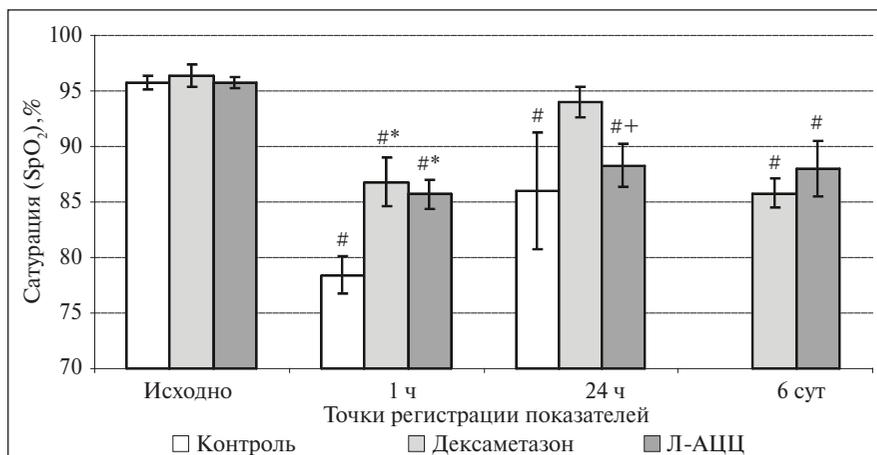


Рис. 2. Изменения сатурации гемоглобина при применении различных схем терапии на фоне ОПЛ. Достоверность различий рассчитана при $p < 0,05$ по отношению к: # – исходное значение; * – контрольная группа; + – группа с применением дексаметазона

вого показателя в экспериментальной группе с применением дексаметазона.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, липосомальный ацетилцистеин не менее эффективен в сравнении с дексаметазоном при однократном внутривенном введении на фоне острого повреждения легких. Ацетилцистеин проявляет себя при этом заболевании как средство, стабилизирующее дыхательную функцию, снижающее легочный отек и смертность.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Stone W.L., Smith M. Therapeutic Uses of Antioxidant Liposomes. *Molecular Biotechnology*, 2004; 27(3): 217–30.
2. Mitsopoulos P., Omric A., Alipour M., Vermeulena N., Smithd M.G., Suintresa Z.E. Effectiveness of liposomal-N-acetylcysteine against LPS-induced lung injuries in rodents. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008; 363: 106–11.
3. Mc Clintock S.D., Hoesel L.M., Das S.K., Till G.O., Neff T., Kunkel R.G. et al. Attenuation of half sulfur mustard gas-induced acute lung injury in rats. *J. Appl. Toxicol.*, 2006; 26: 126–31.
4. Wigenstam E., Rocksn D., Hammarstrm B.E., Buchf A. Treatment with dexamethasone or liposome encapsulated vitamin E provides beneficial effects after chemical-induced lung injury. *Inhalation Toxicology*, 2009; 21(11): 958–64.
5. Куликов О.А., Пятаев Н.А., Инчина В.И., Гуревич К.Г., Заборовский А.В., Минаева О.В., Кокорев А.В. Сравнительный анализ эффективности дексаметазона, гидроксиптилкрахмала и гипертонического раствора хлорида натрия при остром респираторном дистресс-синдроме в эксперименте. *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 2015; 78 (10): 7–11. (Kulikov O.A., Pyataev N.A., Inchina V.I., Gurevich K.G., Zaborovskiy A.V., Minaeva O.V., Kokorev A.V. Comparative analysis of the effectiveness of dexamethasone, hydroxyethyl starch, and hypertonic sodium chloride solution in experimental acute respiratory distress syndrome. *Experimental and Clinical Pharmacology*, 2015; 78 (10): 7–11) (in Russian).
6. Торкунов П.А. Фармакологическая коррекция токсического отека легких. Дис. ... доктора. мед. наук. СПб., 2007: 240. (Torkunov P.A. Pharmacological correction of toxic pulmonary edema. *Diss. Ph. St. Petersburg*: 2007: 240) (in Russian).

Поступила 30 января 2016 г.

INVESTIGATION OF THE THERAPEUTIC EFFICACY OF LIPOSOMAL ACETYLCYSTEINE IN ACUTE LUNG INJURY

O.A. Kulikov¹, MD; E.E. Marochkina¹; I.S. Dolgacheva¹; E.V. Semenova¹, MD; A.V. Kokorev², MD; Professor N.A. Pyataev¹, MD

¹*N.P. Ogarev Mordovian State University; 68, Bolshevistskaya St., Saransk 430005, Russian Federation*

²*National Research Nuclear University, Moscow Engineering Physics Institute, Ministry of Education and Science of Russia; 1, Studgorodok St, Obninsk, Kaluga Region 249040, Russian Federation*

SUMMARY

Introduction. The standard treatment for acute lung injury and acute respiratory distress syndrome is the use of glucocorticosteroids, dexamethasone in particular. According to some authors, liposomal antioxidants, including acetylcysteine, are able to reduce mortality from these diseases; however, the estimates of their efficacy compared to that of dexamethasone are contradictory.

Objective: to compare the therapeutic efficacy of dexamethasone and liposomes with acetylcysteine in their use in case of acute exogenous lung injury.

Material and methods. Acute lung injury was simulated by intratracheal injection of 0.1 ml/kg of acetone in 3 groups of outbred albino rats of both sexes, weighing 220-300 g. Group 1 animals were control; Group 2 received 0.4% dexamethasone solution; Group 3 was given liposomal acetylcysteine (L-ACC). The efficiency of the compared treatments was evaluated from the percentage of surviving animals, hemoglobin saturation, and pulmonary index. The results were statistically processed using the Student's t-test and chi-square test.

Results. Experimental data on trends in survival rates and hemoglobin saturation were obtained in experimental animals with acute lung injury when using different (dexamethasone or L-ACC) therapy regimens.

Conclusion. L-ACC is effective in decreasing mortality from acute lung injury, in increasing blood oxygen saturation, and in reducing the degree of pulmonary edema. L-ACC versus dexamethasone is less effective in treating acute exogenous lung injury. The former has proven to improve respiratory system function and to reduce mortality rates.

Key words: acetylcysteine, liposomes, dexamethasone, acute lung injury.