

**ФАКТОР РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ КАК БИОМАРКЕР ДЛЯ РАННЕЙ  
ДИАГНОСТИКИ ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА  
ТОКСИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ**

Пугач В.А., Тюнин М.А., Кручинин Е.Г., Таборская К.И., Васильев Р.О., Сапкина Е.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины»*

*Министерства обороны Российской Федерации*

195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая д. 4,

телефон/факс 8(812)775-02-41,

gniiivm\_7@mil.ru

**Резюме.** В эксперименте на модели липополисахарид-индуцированного острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) у мышей исследованы изменения содержания фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A) в сыворотке крови и бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) через 6 ч и 24 ч после воздействия. В БАЛЖ выявлено снижение уровня VEGF-A через 6 ч, а в сыворотке крови – увеличение через 24 ч. Полученные результаты позволяют рассмотреть VEGF-A в качестве биомаркера для ранней диагностики ОРДС.

**Ключевые слова:** острый респираторный дистресс-синдром, липополисахарид, биомаркеры, фактор роста эндотелия сосудов, сыворотка крови, бронхоальвеолярная лаважная жидкость.

**VASCULAR ENDOTHELIUM GROWTH FACTOR AS A BIOMARKER OF AN  
EARLY DIAGNOSTICS OF AN ACUTE RESPIRATORY DISTRESS-SYNDROME OF  
TOXIC ETIOLOGY**

Pugach V.A., Tyunin M.A., Kruchinin E.G., Taborskaya K.I., Vasiliev R.O., Sapkina E.V.

*State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine, Ministry of Defense of  
Russian Federation*

195043, Saint Petersburg, Lesoparkovaya Str., 4,

phone/fax: 8(812)775-02-41,

e-mail: gniiivm\_7@mil.ru

**Abstract.** In experiment on mice of a lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress-syndrome (ARDS) the changes of contents of vascular endothelium growth factor (VEGF-A) in serum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) 6 and 24 h following exposure

have been studied. The decrease of VEGF-A level has been detected in BALF 6 h following exposure, while in blood serum there has been an increase of VEGF-A 24 h following exposure. The obtained results allow viewing VEGF-A as a biomarker for an early diagnostics of an ARDS.

**Key words:** acute respiratory distress-syndrome, lipopolysaccharide, biomarkers, vascular endothelium growth factor, serum, bronchoalveolar lavage fluid.

**Введение.** Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) – остро развивающееся осложнение различных тяжелых заболеваний и травм, характеризующееся диффузным воспалительным поражением паренхимы легких и клинически проявляющееся признаками прогрессирующей дыхательной недостаточности [1]. Наиболее часто ОРДС возникает вследствие воздействия неблагоприятных факторов биологической и химической природы [2]. Сложность лечения ОРДС на поздних этапах его развития обуславливает необходимость разработки новых подходов к его ранней диагностике. Актуальным направлением современных исследований в данной области является поиск биомаркеров, позволяющих проследить характерные для ОРДС повреждения легких на начальных этапах его формирования и оценить прогноз дальнейшего течения [3, 4].

В качестве кандидатных биомаркеров ОРДС, определяемых в сыворотке крови и бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ), рассматривают сурфактантные белки (SP-A, SP-B, SP-D, SP-C), растворимую форму рецептора конечных продуктов гликозилирования (RAGE), провоспалительные цитокины (интерлейкин-6, интерлейкин-8) и другие эндогенные соединения, образующиеся при повреждении структур аэрогематического барьера [3, 4]. Следует отметить, что значительное количество работ посвящено изучению роли ангиогенных факторов роста и растворимых форм их рецепторов в индукции увеличения проницаемости сосудистого русла на ранних этапах ОРДС различной этиологии. Перспективными биомаркерами из этой группы считаются представители семейства фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [5]. Ряд авторов связывает изменения концентраций VEGF-A в сыворотке крови и БАЛЖ с критическим повышением проницаемости сосудов микроциркуляторного русла и нарастанием альвеолярного отека легких, которые коррелируют с прогрессированием дыхательной недостаточности и высокой летальностью [6, 7].

**Цель.** Исследовать содержание VEGF-A в сыворотке крови и БАЛЖ при ОРДС токсической этиологии.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на 40 взрослых аутбредных самцах мышей массой тела 30-35 грамм (ФГУП «ПЛЖ «Рапполово», Ленинградская область). Животных содержали в условиях вивария с соблюдением основных зооигиенических норм и правил. Экспериментальную работу проводили в соответствии с требованиями приказа Минздрава России от 01.04.2016 г. №199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

ОРДС моделировали посредством однократного интратрахеального введения липополисахарида (ЛПС) в дозе 1,0 мг/кг (E.coli 055:B5, «Sigma-Aldrich», L2880) в виде водного раствора в объеме 0,25 мл на 100 г массы тела. В качестве контроля использовали животных после интратрахеального введения воды для инъекций в аналогичном объеме.

Через 6 ч и 24 ч у животных проводили оценку функции внешнего дыхания (ФВД), отбирали пробы сыворотки крови и БАЛЖ для определения содержания VEGF-A, а также ткань легкого для расчета массового коэффициента. ФВД исследовали методом плетизмографии с использованием оборудования Emka Technologies (Франция). Уровни VEGF-A изучали при помощи иммуноферментного анализа.

Статистическую обработку результатов проводили методами непараметрической статистики с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 в операционной среде Windows 7. При сравнении количественных показателей использовали U-критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** У мышей развитие ОРДС характеризовалось общим угнетением состояния животных и возникновением инспираторной одышки уже через 5-6 ч после введения ЛПС. К 6 ч регистрировали статистически значимое увеличение частоты дыхания (ЧД) на 20 % ( $p < 0,05$ ) и снижение дыхательного объема (ДО) на 25 % ( $p < 0,05$ ). Через 24 ч в динамике показателей регистрировали увеличение ЧД на 38 % и уменьшение ДО на 32 %, соответственно.

Интратрахеальное введение ЛПС приводило к увеличению массового коэффициента легких, что свидетельствовало о развитии отека (таблица 1).

Таблица 1

Показатели массового коэффициента лёгких у мышей на модели липополисахарид-индуцированного ОРДС (Ме [25%;75%], n=10)

Группа	Массовый коэффициент (Ме [25%;75%])	
	Через 6 ч	Через 24 ч
Контроль	0,61 [0,56;0,68]	0,52 [0,47;0,56]
Опыт	0,99 [0,82;1,27]*	0,79 [0,73;1,06]*

Примечание: \* – различия статистически значимы относительно контрольной группы при  $p < 0,05$

У мышей при развитии ОРДС были выявлены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) изменения содержания VEGF-A относительно контрольных величин. В БАЛЖ отмечено снижение VEGF-A через 6 ч на 48%, а через 24 ч – на 72%. В сыворотке крови увеличение концентрации VEGF-A было выявлено только через 24 ч на 111% (таблица 2).

Таблица 2

Содержание VEGF-A (пг/мл) в БАЛЖ и сыворотке крови у мышей на модели липополисахарид-индуцированного ОРДС (Ме [25%;75%], n=10)

Группа	Содержание VEGF-A, пг/мл			
	Через 6 ч		Через 24 ч	
	БАЛЖ	Сыворотка	БАЛЖ	Сыворотка
Контроль	160 [145;187]	6 [5;8]	148 [140;177]	9 [5;11]
Опыт	84 [75;90]*	8 [6;10]	41 [39;52]*	19 [16;27]*

Примечание: \* –  $p < 0,05$  – различия статистически значимы относительно контрольной группы

**Обсуждение.** Внедрение новых подходов к ранней диагностике ОРДС представляет исключительную важность ввиду недостаточной информативности современных инструментальных методов обнаружения данного синдрома. В связи с этим представляется перспективным поиск прогностических биомаркеров деструкции легочной ткани. Актуальность рассматриваемой проблемы обусловлена, в первую очередь, тем, что изменения концентраций биохимических маркеров ОРДС в сыворотке крови и БАЛЖ в ряде случаев опережают морфологические изменения в ткани легких [4]. В клинических и экспериментальных исследованиях доказана информативность определения некоторых ангиогенных факторов роста, в частности VEGF [4, 5]. Роль VEGF в патогенезе острого повреждения легких до конца не изучена. Ряд авторов полагает, что VEGF-A участвует в инициации увеличения проницаемости аэрогематического барьера, а, следовательно, и в развитии отека легких. В то же время, результаты некоторых работ свидетельствуют о реализации протективных свойств VEGF при ОРДС [5, 6, 7, 8].

Настоящая работа посвящена изучению содержания VEGF-A в сыворотке крови и БАЛЖ в ранние сроки развития ОРДС. В ходе исследования показано, что изменения концентраций VEGF-A происходят параллельно с увеличением степени выраженности отека легких и прогрессирующим нарушением ФВД у мышей.

Полученные результаты согласуются с данными клинических исследований, в которых выявлено снижение уровня VEGF в БАЛЖ и увеличение его уровня в сыворотке крови [6, 8]. Считается, что такая динамика содержания VEGF вызвана его декомпартиментализацией из ткани легкого в системный кровоток в результате прогрессирующей деструкции компонентов аэрогематического барьера, а также дисбалансом между образованием растворимой и мембранно-связанной его изоформами [5, 8].

Таким образом, можно предположить, что выявленные в настоящем исследовании разнонаправленные изменения уровня VEGF-A в БАЛЖ и сыворотке крови могут выступать в качестве диагностических критериев развития ОРДС на ранних этапах его развития.

**Выводы.** Полученные результаты позволяют рассмотреть VEGF в качестве биомаркера для ранней диагностики ОРДС токсической этиологии. В реализации данного подхода актуальным представляются дальнейшие исследования роли и прогностического потенциала VEGF при развитии ОРДС, вызванного воздействием различных токсических факторов.

**Литература.**

1. Грицан А.И. Диагностика и интенсивная терапия острого респираторного дистресс-синдрома. Клинические рекомендации ФАР / А.И. Грицан [и др.] // Анестезиология и реаниматология. – 2016. – Т. 61, № 1. – С. 62–70.
2. Angelini D.J. Chemical warfare agent and biological toxin-induced pulmonary toxicity: could stem cells provide potential therapies? / D.J. Angelini [et al.] // Inhal. Toxicol. – 2013. – Vol. 25, №1. – P. 37–62.
3. Тюнин М.А. Современные подходы к ранней диагностике острого респираторного дистресс-синдрома взрослых различной этиологии / М.А. Тюнин [и др.] // 3-й Азиатско-тихоокеанский конгресс по военной медицине: материалы конгресса. – 2016. – С. 160–161.
4. Blondonnet R. A Pathophysiologic approach to biomarkers in acute respiratory distress syndrome / R. Blondonnet [et al.] // Dis Markers. – 2016. – Article ID 3501373.
5. Barratt S., Medford A.R., Millar A.B. Vascular endothelial growth factor in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome // Respiration. – 2014. – Vol. 87, № 4. – P. 329–342.
6. Thickett D.R. Vascular endothelial growth factor may contribute to increased vascular permeability in acute respiratory distress syndrome / D.R. Thickett [et al.] // Am J Respir Crit Care Med. – 2001. – Vol. 164, №9. – P.1601–1605.
7. Qin M., Qiu Z. Changes in TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 and VEGF in rats with ARDS and the effects of dexamethasone // Exp Ther Med. – 2019. – Vol. 17, №1. – P.383–387.
8. Thickett D.R., Armstrong L., Millar A.B. A role for vascular endothelial growth factor in acute and resolving lung injury // Am J Respir Crit Care Med. – 2002. – Vol. 166, №10. – P. 1332–1337.