

УДК 616.24-001.17-092.9:577.1

© Т.А. Сухомлин, Л.Г. Нетюхайло, 2012.

СТАН NO-ЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ В УМОВАХ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ

Т.А. Сухомлин, Л.Г. Нетюхайло

ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія", Кафедра медичної, біологічної та біоорганічної хімії (зав. – проф. К.С. Непорада) м. Полтава.

CONDITION OF NO-ERGIC SYSTEM UNDER AT BURN DISEASE IN LUNGS OF RATS

T.A. Sukhomlyn, L.G. Netyukhaylo

SUMMARY

Under conditions of burn disease in lungs the activity of NO-synthase increases. The highest activity was observed at first day, this corresponds to the stage of burn shock. At the same time there was an accumulation in the lungs of NO_2^- , which may be a substrate for NO synthesis.

СОСТОЯНИЕ NO-ЭРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ЛЕГКИХ КРЫС ПРИ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ

Т.А. Сухомлин, Л.Г. Нетюхайло

РЕЗЮМЕ

В условиях ожоговой болезни в тканях легких повышается активность NO-эргической системы. Самая высокая активность NO-синтазы наблюдалась на 1 сутки, что соответствует стадии ожогового шока. Одновременно с этим в легких происходило накопление NO_2^- , который может быть субстратом для синтеза NO за счет нитритредуктазных систем.

Ключові слова: легені, опікова хвороба, NO-синтаза, оксид азоту, нітрити.

За останні роки у важкообпечених хворих все частіше відмічається розвиток поліорганної недостатності. Ушкодження легень в структурі синдрому поліорганної недостатності посідає одне з перших місць, що пов'язано як з прямим термічним ушкодженням дихальних шляхів, так і ураженням легень ендogenous токсинами [3]. При приєднанні легеневи́х ускладнень значно зростає летальність при опіковій хворобі, що робить дану проблему надзвичайно актуальною для комбустіології. Водночас, зростає кількість досліджень про участь NO в якості посередника при загальній запальній відповіді, спричиненій опіками шкіри [13, 15], та зміни синтезу NO, пов'язані з віддаленими дисфункціями органів при опіковій хворобі. Проте вплив опікової хвороби в різні стадії на метаболізм тканини легень, зокрема, на NO-ергічну систему вивчений недостатньо.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експерименти виконані на 42 білих щурах-самцях, вагою 180-250г, з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією. Тварин утримували на звичайному раціоні в стандартних умовах віварію. Евтаназію тварин здійснювали під ефірним наркозом. Опікову хворобу моделювали за методом А.П. Довганського [2] шляхом занурення епільованої задньої кінцівки в гарячу воду ($t\ 70-75^\circ\text{C}$) під ефірним наркозом, протягом 7 сек. За цих умов утворювався опік IIIA-B ступеню, площа якого становила 12-15% поверхні тіла тварини, що є стандартною моделлю розвитку експериментальної опікової хвороби (EOX).

Площу ураження розраховували за допомогою спеціальної таблиці М.І. Кочетігова [4]. Евтаназію проводили на 1-у, 7-у, 14-у, 21-у, 28-у добу під ефірним наркозом, що відповідає стадіям опікового шоку, ранньої та пізньої токсемії, септикотоксемії. Для оцінки стану NO-ергічної системи в гомогенаті легень визначали активність NOS [КФ 1.14.13.19] та вміст NO_2^- [10]. Отримані результати обробляли статистично з використанням U-критерію Манна-Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

NO визнано універсальним медіатором, що продукується багатьма типами клітин, крім судинного ендотелію, та який має різноманітну і складну дію в різних органах і системах [12]. NO утворюється в організмі при окисненні амінокислоти аргініну під дією НАДФ-залежної NO-синтази (NOS). NOS існує у різних ізоформах: нейрональній (nNOS), ендотеліальній (eNOS), які постійно містяться в клітині, та індукційній (iNOS), синтез якої індуктується під впливом прозапальних та імуногенних факторів (наприклад, фактору некрозу пухлин, TNF α , інтерлейкіну 1, IL-1, ендотоксинів) [6]. Відомо, що iNOS в деяких тканинах, зокрема в епітелії дихальних шляхів, експресується постійно, під час опікової хвороби її продукція зростає [14].

З таблиці 1 видно, що в умовах опікової хвороби в легенях щурів підвищувались активність NO-синтази, досягаючи максимуму на 1-у добу (підвищення складало в 2,6 разу), що відповідає стадії опікового шоку, в подальшому активність NO-синтази дещо знизилась, в період токсемії на 7-у добу

перевищувала контрольні показники в 2,17 разу, на 14-у добу в 1,65 разу. В період септикотоксемії на 21-

у добу ЕОХ її активність була в 1,58 разу, а на 28-у добу в 1,41 разу вища, ніж у контрольних щурів.

Таблиця 1

Активність NO-синтази та вміст $[\text{NO}_2^-]$ в тканинах легень щурів при опіковій хворобі, ($M \pm m$)

Група тварин	Активність NO-синтази, мкмоль $[\text{NO}_2^-]/(\text{г} \cdot \text{хв.})$	Вміст $[\text{NO}_2^-]$, мкмоль $[\text{NO}_2^-]/\text{г}$
1. Контроль (n=7)	4,22±0,18	0,024±0,005
2. Опікова хвороба 1-а доба (n=7)	11,9±0,44	0,118±0,003
3. Опікова хвороба 7-а доба (n=7)	9,18±0,29	0,072±0,01
4. Опікова хвороба 14-а доба (n=7)	6,98±0,41	0,031±0,001
5. Опікова хвороба 21-а доба (n=7)	6,68±0,31	0,045±0,002
6. Опікова хвороба 28-а доба (n=7)	5,94±0,46	0,064±0,007

Примітка: $p_{1-2} < 0.05$, $p_{1-3} < 0.05$, $p_{1-4} < 0.05$, $p_{1-5} < 0.05$, $p_{1-6} < 0.05$.

У вільному стані період напівжиття NO знаходиться в межах 6-30 секунд, після чого відбувається окиснення NO до NO_2^- та NO_3^- , а наявність нітритредуктазних систем створює умови для перетворення нітратів та нітритів знову на NO, що дозволяє зменшити токсичний вплив внаслідок їх накопичення. Біодоступність NO лімітується також його реакцією з оксигемоглобіном, вільними або білокзв'язаними тіоловими групами та супероксид радикалом. Останній інгібує O_2^- опосередковану цитотоксичність, але призводить до утворення високореакційних молекул, пероксинітриту (ONOO^-), який може в свою чергу взаємодіяти з нуклеїновими кислотами, ліпідами та білками, спричиняючи клітинну дисфункцію та пошкодження тканин. З таблиці видно, що в умовах опікової хвороби в легенях щурів підвищується вміст NO_2^- . Максимальне збільшення NO_2^- спостерігалось на 1 добу опікової хвороби, порівняно з контролем в 4,91 разу, далі показник дещо знижувався, а потім знову починав зростати. В стадію септикотоксемії, на 21-у добу він зріс у 1,87 разу по відношенню до контролю, а на 28-у добу у 2,66 разу відповідно. Це може свідчити про поступове накопичення метаболітів NO у тканинах легень, крім того нітритредуктазні системи підвищують синтез NO.

ВИСНОВКИ

Таким чином, в умовах тривалої опікової хвороби відзначалось підвищення активності NO-ергічної системи в легенях щурів. Одночасно з цим відбувалось накопичення в легеневої тканині NO_2^- , метаболіту циклічних перетворень оксиду азота та можливого субстрату для синтезу NO за рахунок нітритредуктазних систем. Максимальна активність NO-синтази та вміст NO_2^- спостерігались на 1-у добу, що відповідає стадії опікового шоку. Це можна пояснити активацією запальних процесів у легенях в умовах опікової хвороби [11] та накопиченням NO_2^- у легенях [6].

ЛІТЕРАТУРА

1. Гула Н.М. Протизапальний вплив N-стеароїлетаноламіну на експериментальну опікову травму в щурів / Н.М. Гула, А.А. Чумак, А.Г. Бердишев та ін. // Укр.біохім.журн. – 2009. – Том 89, №2. – С.107-116.
2. Довганский А.П. Материалы к патогенезу ожоговой болезни: автореф. дис. доктора мед. наук: спец. 14765 «Патологическая физиология» / А.П. Довганский. – Кишинев, 1971. – 32с.
3. Клименко М.О. Опікова хвороба (патогенез і лікування) / М.О. Клименко, Л.Г. Нетюхайло. – Полтава, 2009. – 118 с.
4. Кочетыгов Н.И. Ожоговая болезнь : Монография / Н.И. Кочетыгов. – Л.: Медицина, 1973. – 244 с.
5. Пшенникова М.Г., Смирин Б.В., Бондаренко О.Н. и др. Депонирование оксида азота у крыс различных генетических линий и его роль в антистрессорном эффекте адаптации к гипоксии // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. – 2000. – Том 86, №2. – С.174-181.
6. Реутов В.П. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, В.Е. Охотин, Н.С. Косицин. – М.: Наука, 1998. – 159с.
7. Ткаченко М.М. Оксид азота та судинна регуляція (огляд літератури) / М.М.Ткаченко // Журн. АМН України. – 1997. – Том 3, №2. – С. 241-254.
8. Barnes PJ Nitric oxide and lung disease / Barnes PJ, Belvisi MG // Thorax. – 1993. – Vol.48, №10. – P.1034-43.
9. Filippou D Nitric oxide, antioxidant capacity, nitric oxide synthase and xanthine oxidase plasma levels in a cohort of burn patients / Filippou D, Papadopoulos VP, Triga A, Filippou G, Rizos S, Skandalakis P, Manolis E // Burns. – 2007. – Vol.33, №8. – P.1001-7.
10. Hevel J. M. Purification of the inducible murene macrophage nitric oxide synthase / J. M. Hevel // J. Biol. Chem., 1991. – V. 266, №34. – P. 22.

11. Lakshmi RTS Low molecular weight heparin mediated regulation of nitric oxide synthase during burn wound healing / Lakshmi RTS, Priyanka T, Meenakshi J, Mathangi KR, Jeyaraman V // Ann Burns Fire Disasters. – 2011. – Vol.24, №1. – P.24-29.
12. Lange M Beneficial effects of concomitant neuronal and inducible nitric oxide synthase inhibition in ovine burn and inhalation injury / Lange M, Hamahata A, Enkhbaatar P, Cox RA Shock. – 2011. – Vol.35, №6. – P.626-31.
13. Rawlingson A Nitric oxide, inflammation and acute burn injury / Rawlingson A // Burns. – 2003. – Vol.29, №7. – P.631-40.
14. Traber DL The role of the bronchial circulation in the acute lung injury resulting from burn and smoke inhalation / Traber DL, Hawkins HK, Enkhbaatar P, Cox RA, Schmalstieg FC, Zwischenberger JB, Traber LD // Pulm Pharmacol Ther. – 2007. – Vol.20, №2. – P.163-6.
15. Westphal M Neuronal nitric oxide synthase inhibition attenuates cardiopulmonary dysfunctions after combined burn and smoke inhalation injury in sheep / Westphal M, Enkhbaatar P, Schmalstieg FC, Kulp GA // Crit Care Med. – 2008. – Vol.36, №4. – P.1196-204.