

УДК: 616.24-001.17-092.9:577.1

Сухомлин Т.А.

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА КОРЕКЦІЯ ЗМІН NO-ЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ В ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ ПРИ ОПІКОВІЙ ХВОРОБІ

ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія", м. Полтава

*Стаття присвячена вивченню змін NO-ергічної системи легень при опіковій хворобі. Метою дослідження було вивчення впливу Ліпіну на стан NO-ергічної системи в легенях при опіковій хворобі. Опікову хворобу моделювали шляхом занурення задньої кінцівки щурів у гарячу воду на 7 сек. Ліпін вводили внутрішньоочеревинно в дозі 50 мг/кг відразу після опіку. В гомогенаті легень визначали активність NOS [КФ 1.14.13.19] та вміст  $NO_2^-$ . В умовах опікової хвороби в легенях щурів підвищувались активність NO-синтази, максимально в стадію опікового шоку. Потім активність NOS дещо знизилась, але перевищувала контроль. Також в легенях підвищувався вміст  $NO_2^-$ , максимально на 1 добу опікової хвороби, далі показник дещо знижувався. При застосуванні Ліпіну активність NOS підвищувалась перші два тижні експерименту, а потім поступово поверталась до норми. Протягом усього експерименту активність NOS в легенях щурів була достовірно нижчою, ніж у контрольному тварин. Вміст  $NO_2^-$  був нижчий, ніж без корекції. Отже, в умовах опікової хвороби відзначалось підвищення активності NO-ергічної системи в легенях щурів. Максимальна активність NO-синтази та вміст  $NO_2^-$  спостерігались на 1-у добу, що відповідає стадії опікового шоку. Експериментальна корекція Ліпіном нормалізує активність NOS та вміст нітритів у тканинах.*

Ключові слова: опікова хвороба, легені, NO-синтаза, нітрити, ліпін

Робота є фрагментом НДР «Біохімічні і патофізіологічні механізми uszkodження внутрішніх органів при опіковій хворобі», державний реєстраційний номер №0111U005142.

### Вступ

За даними ВООЗ, термічні опіки займають третє місце у структурі смертності внаслідок отриманих травм [3, 6]. Ушкодження легень в структурі синдрому поліорганної недостатності, який розвивається у важко обпечених хворих, посідає одне з перших місць, що робить дану проблему надзвичайно актуальною для комбустіології. Роль NO-ергічної системи при гострому пошкодженні легень досить суперечлива, оскільки було описано як шкідливі, так і корисні ефекти NO [9]. Постійно зростає кількість досліджень про участь NO в якості посередника при загальній запальній відповіді, спричиненій опіками шкіри [4, 7], 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.

### Мета дослідження

Вивчення впливу препарату «Ліпін» на стан NO-ергічної системи в легенях щурів в умовах експериментальної опікової хвороби (ЕОХ) в докладній динаміці.

### Матеріали та методи

Експерименти виконані на 112 білих щурасамцях, вагою 180-250г, з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією. Тварин утримували на звичайному раціоні в стандартних умовах віварію. Опікову хворобу моделювали за методом А.П. Довганського [2] шляхом занурення епільованої задньої кінцівки в гарячу воду ( $t +70-75^{\circ}C$ ) під ефірним наркозом,

протягом 7 сек. За цих умов утворювався опік II-ІА-Б ступеню, площа якого становила 12-15% поверхні тіла тварини, що є стандартною моделлю розвитку експериментальної опікової хвороби (ЕОХ). 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. Препарат «Ліпін», що є природним фосфатидилхоліном, вводили внутрішньоочеревинно в дозі 50 мг/кг відразу після моделювання ЕОХ. Для оцінки стану NO-ергічної системи в гомогенаті легень визначали активність NOS [КФ 1.14.13.19] та вміст  $NO_2^-$  [8]. Отримані результати обробляли статистично з використанням U-критерію Манна-Уїтні.

### Результати дослідження та їх обговорення

NO визнано універсальним медіатором, що продукується багатьма типами клітин, окрім судинного ендотелію, та який має різноманітну і складну дію в різних органах і системах [5]. NO утворюється в організмі при окисненні амінокислоти аргініну під дією НАДФ-залежної NO-синтази (NOS). NOS в організмі існує у різних ізоформах: нейрональній (nNOS), ендотеліальній (eNOS), які постійно містяться в клітині, та індукційній (iNOS), синтез якої індукується під впливом прозапальних та імуногенних факторів (наприклад, фактору некрозу пухлин, TNF- $\beta$ , IL-1, ендотоксинів) [4].

Встановлено, що в умовах опікової хвороби в легенях щурів підвищувались активність NO-синтази, досягаючи максимуму на 1-у добу (підвищення складало в 2,6 разу ( $p < 0,05$ )), 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 ( $p < 0,05$ ), на 14-у добу в 1,65 разу ( $p < 0,05$ ). В період септикотоксемії на

21-у добу ЕОХ її активність була в 1,58 разу ( $p < 0,05$ ), а на 28-у добу в 1,41 разу ( $p < 0,05$ ) вища, ніж у контрольних щурів (табл. 1.).

Таблиця 1.  
Активність NO-синтази та вміст  $[NO_2^-]$  в тканинах легень щурів при опіковій хворобі. ( $M \pm m$ )

Група тварин	Активність NO-синтази, мкмоль $[NO_2^-]/(г \cdot хв.)$	Вміст $[NO_2^-]$ , мкмоль $[NO_2^-]/г$
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
Статистичний показник	$p_{1-2} < 0,05, p_{1-3} < 0,05, p_{1-4} < 0,05, p_{1-5} < 0,05, p_{1-6} < 0,05$	

З таблиці 1 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 ( $p < 0,05$ ), далі показник дещо знижувався, а потім знову починав зростати. В стадії септикотоксемії, на 21-у добу він зріс у 1,87 разу ( $p < 0,05$ ) по відношенню до контролю, а на 28-у добу у 2,66 разу ( $p < 0,05$ ) відповідно. Це

може свідчити про поступове накопичення метаболітів NO у тканинах легень, крім того нітритредуктазні системи підвищують синтез NO.

В умовах корекції препаратом «Ліпін» (табл. 2) активність NOS на 1-у добу підвищилась в 1,45 разу ( $p < 0,05$ ), на 7-у добу – в 1,72 разу ( $p < 0,05$ ), на 21-у добу – в 1,78 разу ( $p < 0,05$ ), а на 28-у добу – в 1,34 разу ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 2.  
Активність NO-синтази та вміст  $[NO_2^-]$  в тканинах легень щурів при ЕОХ за умов корекції препаратом «Ліпін». ( $M \pm m$ )

Група тварин	Активність NO-синтази, мкмоль $[NO_2^-]/(г \cdot хв.)$	Вміст $[NO_2^-]$ , мкмоль $[NO_2^-]/г$
1. Контроль (n=7)	4,22±0,18	0,024±0,005
2. Опікова хвороба 1-а доба (n=7)	6,11±0,87	0,095±0,003
3. Опікова хвороба 7-а доба (n=7)	7,26±0,55	0,075±0,004
4. Опікова хвороба 14-а доба (n=7)	7,31±0,52	0,048±0,001
5. Опікова хвороба 21-а доба (n=7)	7,51±0,43	0,043±0,002
6. Опікова хвороба 28-а доба (n=7)	5,65±0,48	0,031±0,001
Статистичний показник	$p_{1-2} < 0,05, p_{1-3} < 0,05, p_{1-4} < 0,05, p_{1-5} < 0,05, p_{1-6} < 0,05$	

Таким чином, в групі із застосуванням препарату «Ліпін» активність NOS підвищувалась перші два тижні експерименту, а потім поступово поверталась до норми. Протягом усього експерименту активність NOS в легенях щурів була достовірно нижчою, ніж у контрольних тварин. Вміст  $NO_2^-$  при застосуванні препарату «Ліпін» на 1-у добу зростав в 3,95 разу ( $p < 0,05$ ), на 7-у добу – у 3,12 разу ( $p < 0,05$ ), на 28-у добу ЕОХ перевищував контрольні показники у 1,33 разу ( $p < 0,05$ ).

### 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 та накопиченням  $NO_2^-$  у легенях. Екс-

периментальна корекція препаратом «Ліпін» нормалізує активність NOS та вміст нітритів у тканинах.

### Література

1. Бескаравайный Б.А. Препараты природного фосфатидилхолина: перспективы применения в педиатрии / Б.А. Бескаравайный, М.И. Когутницкая // Здоровье ребенка. – 2007. – Т.9, №6. – С.100-106.
2. Довганский А.П. Материалы к патогенезу ожоговой болезни : автореф. дис. доктора мед. наук : спец. 14765 «Патологическая физиология» / А.П. Довганский. – Кишинев, 1971. – 32 с.
3. Клименко М.О. Опікова хвороба (патогенез і лікування) / М.О. Клименко, Л.Г. Нетюхайло. – Полтава, 2009. – 118 с.
4. Нетюхайло Л.Г. Стан NO-ергічної системи легень щурів в умовах опікової хвороби / Л.Г. Нетюхайло, Т.А. Сухомлин // Таврійський медико-біологічний вісник. – 2012. – Т.15, №3, ч.1. – С.315-317.
5. 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. – 159 с.
6. Сухомлин Т.А. Патогенетичні механізми ушкодження легень при опіковій хворобі / Т.А. Сухомлин, Л.Г. Нетюхайло // Світ медицини та біології. – 2011. – №2. – С.184-189.
7. Filippou D Nitric oxide, antioxidant capacity, nitric oxide synthase and xanthine oxidase plasma levels in a cohort of burn patients / D. Filippou, V.P. Papadopoulos, A. Triga, G. Filippou, S. Rizos, P. Skandalakis, E. Manolis // Burns. – 2007. – V.33, №8. – P.1001-7.
8. Hevel J.M. Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase / J.M. Hevel // J. Biol. Chem. – 1991. – V.266, №34. – P.22.
9. Rawlingson A. Nitric oxide, inflammation and acute burn injury / A. Rawlingson // Burns. – 2003. – V.29, №7. – P.631-40.

### Реферат

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ КОРРЕКЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ NO-ЭРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ЛЕГКИХ КРЫС ПРИ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ

Сухомлин Т.А.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, легкие, NO-синтаза, нитриты, липин

Статья посвящена изучению изменений NO-эргической системы легких при ожоговой болезни. Целью исследования было изучение влияния Липина на состояние NO-эргической системы легких при ожоговой болезни. Ожоговую болезнь моделировали путем погружения задней конечности крыс в горячую воду на 7 сек. Липин вводили внутривентриально в дозе 50 мг/кг сразу после ожога. В гомогенате легких определяли активность NOS [КФ 1.14.13.19] и содержание  $\text{NO}_2^-$ . В условиях ожоговой болезни в легких крыс возрастала активность NO-синтазы, максимум в стадии ожогового шока. Потом активность NOS снижалась, но превышала контроль. Также в легких росло содержание  $\text{NO}_2^-$ , максимально на 1-е сутки ожоговой болезни, дальше показатель снижался. При применении Липина активность NOS возрастала первые две недели эксперимента, а потом постепенно возвращалась к норме. На протяжении всего эксперимента активность NOS в легких была достоверно ниже, чем у контрольных животных. Содержание  $\text{NO}_2^-$  было ниже, чем без коррекции. Таким образом, в условиях ожоговой болезни отмечалось увеличение активности NO-эргической системы в легких крыс. Максимальная активность NO-синтазы и содержания  $\text{NO}_2^-$  наблюдались на 1-е сутки, что соответствует стадии ожогового шока. Экспериментальная коррекция Липином нормализует активность NOS и содержание нитритов в тканях.

### Summary

EXPERIMENTAL CORRECTION CHANGE OF NO- ERGIC IN THE LUNGS OF RATS WITH BURN DISEASE

Sukhomlyn T. A.

Key words: burn disease, lungs, NO-synthase, nitrites, Lipin.

This paper is devoted to the changes occurring in NO-ergic system in the lungs of rats under modeled burn disease. The study presented was aimed to investigate therapeutic effects produced by a medication "Lipin" on the state of NO-ergic system in the lungs of rats under burn disease. Burn disease was modeled by the Dovhansky's method when a hind limb was dipped into hot water under ether anesthesia for 7 seconds. Lipin was injected intraperitoneally in a dose of 50 mg / kg immediately after burn disease had been simulated. Euthanasia was performed on the 1st, 7th, 14th, 21st, 28th days under ether anesthesia that corresponded to the stages of burn shock, early and late toxemia, septicopyemia. To assess the state of NO-ergic system the NOS activity and  $\text{NO}_2^-$  content was determined in the lung homogenate. Under burn disease in the lungs of rats there was increased activity of NO-synthase with its maximum in the stage of burn shock. Then the NOS activity slightly decreased but exceeded that in the control. There was also registered an increased  $\text{NO}_2^-$  content in the lungs, with its maximum on the 1<sup>st</sup> day of burn disease with following little decrease. Against the background of Lipin introduction the NOS activity was observed to increase for first two weeks of the experiment, and then gradually returned to normal. During the whole experiment the NOS activity in the lungs was significantly lower than in the animals of the control group.  $\text{NO}_2^-$  content was lower compared with those without correction. Thus, under modeled burn disease there was as increased activity of NO-ergic system in the lungs of the rats. Maximum activity of NO-synthase and  $\text{NO}_2^-$  content was observed on the 1st day that corresponds to the stage of burn shock. Experimental correction with Lipin normalizes the NOS activity and nitrite content in the lung tissues.