

DOI 10.31718/2077-1096.19.2.107

УДК: 616.61 – 001.17

Басараб Я.О.

НО-ЕРГІЧНА СИСТЕМА В ТКАНИНАХ НИРОК ПРИ ОПІКОВІЙ ХВОРОБІ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Мета дослідження – вивчення стану NO-ергічної системи в тканинах нирок щурів при експериментальній опіковій хворобі. Матеріали та методи. Експерименти виконані на статевозрілих щурах-самцях. Опікову хворобу моделювали за методом Довганського шляхом занурення епільованої поверхні шкіри задньої кінцівки експериментальних тварин в гарячу воду (t 70-750C) під легким ефірним наркозом, протягом 7 сек. Розмір ділянки пошкодження визначали в залежності від площі шкіряного покриву, яка в середньому становила 12-15% поверхні тіла тварини. Площу ураження розраховували за допомогою спеціальної таблиці Кочетыгова. Гістологічне дослідження пошкодженої шкіри свідчило, що при вищезазначених умовах утворювався опік IIIA-B ступеня, що, згідно до сучасних уявлень, є стандартною моделлю розвитку опікової хвороби в експерименті. Щурів декапітували під ефірним наркозом через 1,7,14,21 діб, що, за сучасними уявленнями, відповідає стадіям шоку, ранньої і пізньої токсемії і септикотоксемії. Для оцінки стану NO-ергічної системи визначали активність NO-синтази (КФ 1.14.13.19) та вмісту нітритів в тканинах нирок. Результати. В залежності від стадії опікової хвороби зміни в NO –ергічній системі мали свої особливості. Так в нирках, на 1-у добу, в стадію опікового шоку активність NOS збільшувалась максимально, при цьому пік збільшення вмісту нітритів спостерігався на 7-у добу, в стадію ранньої токсемії. Висновки. Таким чином, в умовах тривалої опікової хвороби відзначалось підвищення активності NO-ергічної системи в нирках щурів. Це можна пояснити активацією запальних процесів у нирках в умовах опікової хвороби та накопиченням NO₂– у нирках.

Ключові слова: NO-ергічна система, нирки, опікова хвороба.

Дана робота виконана в рамках НДР «Загальні закономірності патологічних змін при експериментальній опіковій хворобі та розробка способів їх корекції»

Вступ

Опікова травма в розвинених країнах є одним із самих розповсюджених видів пошкоджень мирного та воєнного часу [6, 9]. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) опіки стабільно займають третє місце в структурі травматизму; на термічні пошкодження приходить 6% від усіх травм, при цьому кількість постраждалих в промислово розвинених країнах постійно зростає [5,6].

Роль NO-ергічної системи при ушкодженні різноманітних органів досить суперечлива, було описано як шкідливі, так і корисні ефекти NO [5,11,12]. Збільшується кількість досліджень про роль NO в порушенні функцій органів при опіках. Як було нещодавно встановлено, NO є важливим регулятором ниркової гемодинаміки і гломерулярної фільтрації. Проте вплив опікової хвороби в різні її стадії на метаболізм тканин нирок, зокрема, на NO-ергічну систему вивчений недостатньо.

Мета дослідження

Вивчення стану NO-ергічної системи в тканинах нирок щурів при експериментальній опіковій хворобі.

Матеріали і методи

Експерименти виконані на статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 200-220 г. Опікову хворобу моделювали за методом Довганського [1] шляхом занурення епільованої поверхні шкіри задньої кінцівки експериментальних тварин в гарячу воду (t 70-75⁰C) під легким ефірним

наркозом, протягом 7 сек. Розмір ділянки пошкодження визначали в залежності від площі шкіряного покриву, яка в середньому становила 12-15% поверхні тіла тварини. Площу ураження розраховували за допомогою спеціальної таблиці Н.И. Кочетыгова [2].

Гістологічне дослідження пошкодженої шкіри свідчило, що при вищезазначених умовах утворювався опік IIIA-B ступеня, що, згідно до сучасних уявлень, є стандартною моделлю розвитку опікової хвороби в експерименті [3]. Щурів декапітували під ефірним наркозом через 1,6,12 годин та 1,2,3,5,7,10,14,21,28 діб, що, за сучасними уявленнями [3], відповідає стадіям шоку, ранньої і пізньої токсемії і септикотоксемії.

Для оцінки стану NO-ергічної системи визначали активність NO-синтази (КФ 1.14.13.19) та вмісту нітритів в тканинах слинних залоз [7,9].

Результати та їх обговорення

Активність NO-синтази у тканинах нирок щурів зростала у порівнянні з контролем у 2,34 рази (p<0,05) на 1-у добу ЕОХ, на 7-у добу – у 2,08 рази (p<0,05), на 14-у добу – у 2,02 рази (p<0,05), на 21-у добу – у 1,94 рази (p<0,05), на 28-у добу – у 1,68 рази (p<0,05). Найвищі показники активності NO-синтази припали на 1-у та 7-у добу опікової хвороби, що відповідає стадіям опікового шоку та ранньої токсемії (табл.).

Рівень нітритів у тканинах нирок щурів збільшився у порівнянні з контролем у 2,34 рази (p<0,05) на 1-у добу ЕОХ, на 7-у добу – у 3,56 рази (p<0,05), на 14-у добу – у 2,95 рази (p<0,05), на 21-у добу – у 2,47 рази (p<0,05), на

28-у добу – у 1,91 рази ($p < 0,05$), що свідчить про розвиток нітрозативного стресу. Найвищі показники вмісту нітритів припали на 7-у та 14-у добу

опікової хвороби, що відповідає ранньої та пізньої токсемії (табл.).

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

Група тварин	Активність NO-синтази, мкмоль/хв-мг протеїну	Вміст $[NO_2^-]$, мкмоль/г тканини
1. Контроль (n=7)	1,94±0,24	0,023±0,003
2. ЕОХ 1-а доба (n=7)	4,54±0,14*	0,054±0,005*
3. ЕОХ 7-а доба (n=7)	4,05±0,73*	0,082±0,005*
4. ЕОХ 14-а доба (n=7)	3,92±0,18*	0,068±0,004*
5. ЕОХ 21-а доба (n=7)	3,71±0,23*	0,057±0,008*
6. ЕОХ 28-а доба (n=7)	3,26±0,55*	0,044±0,006*

Примітка: n – кількість тварин, вірогідність порівняно з контролем: * - $p < 0,05$

У розвитку процесів, що супроводжуються гіпоксичним стресом виділяють 2 ланки: оксидативну й нітрозативну. Для нітрозативного стресу характерним є збільшена продукція та ушкоджуюча дія оксиду азоту та його похідних. Головний шлях синтезу NO - ензиматичний при участі ферментів NO-синтаз, в якості субстрату в більшості випадків виступає аргінін. NO може утворюватися in vivo шляхом відновлення нітрат/нітрит-аніонів до NO гемвмісними та молібденвмісними білками при гіпоксії, біотрансформація нітриту до NO при ацидозі тканин, реакція між аргініном та пероксидом водню. Перелічені механізми мають назву метаболічний цикл оксиду азоту. Оксид азоту та його вільнорадикальні похідні в залежності від умов утворення здатні виявляти регуляторні або цитотоксичні ефекти. Їх цитотоксична дія полягає в інгібуванні активності деяких білків-ферментів, зокрема, внаслідок нітрузування їх функціональних груп, розщепленні нуклеїнових кислот, при ушкодженні компонентів ланцюга тканинного дихання, ушкодженні ліпідів [6,8,10].

Отже, в залежності від стадії опікової хвороби зміни в NO-ергічній системі мали свої особливості. Так, в нирках, на 1-у добу, в стадію опікового шоку активність NOS збільшувалась максимально, при цьому пік збільшення вмісту нітритів спостерігався на 7-у добу, в стадію ранньої токсемії. Дані результати дозволяють припустити, що при опіковій хворобі цитотоксичний ефект NO переважає над цитопротекторним, особливо в стадії опікового шоку і ранньої токсемії.

Висновки та перспективи

Таким чином, в умовах тривалої опікової хвороби відзначалось підвищення активності NO-ергічної системи в нирках щурів. Це можна пояснити активацією запальних процесів у нирках в умовах опікової хвороби та накопиченням NO_2^- у нирках.

Реферат

NO-ЭРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА В ТКАНЯХ ПОЧЕК ПРИ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ

Басараб Я.А.

Ключевые слова: NO-ергическая система, почки, ожоговая болезнь.

Цель исследования - изучение состояния NO-ергической системы в тканях почек крыс при экспериментальной ожоговой болезни. Материалы и методы. Эксперименты выполнены на половозрелых крысах-самцах. Ожоговую болезнь моделировали методом Довганского путем погружения эпилированной поверхности кожи задней конечности экспериментальных животных в горячую воду ($t 70-75^{\circ}C$)

Очевидно, що подальше вивчення ролі NO при опіковій хворобі в нирках дозволить поглибити знання про патогенез опіків, а звідси і до появи нових методів терапії опікової хвороби.

Література

1. Dovganskiy AP. Materialy k patogenezu ozhogovoy bolezni: avtoref. dis. na soiskanie uchen. stepeni doktora med. nauk: spets. 14765 «Patologicheskaya fiziologiya» [Materials for the pathogenesis of burn disease] Kishinev, 1971. 32p. (Russian)
2. Kochetygov NI. Ozhogovaya bolezni [Burn disease] Meditsina, 1973. 244p. (Russian)
3. Pasechka NV. Morfologiya kishki pri opikoviy hvorobi ta pislya korektsiyi enterosorbentami: avtoref. dis. na zdobuttaya nauk.stupenya doktora med.nauk: spets. 14.03.16 «gistologiya, tsitologiya, embriologiya» [Morphology of the gut in burn disease and after correction by enterosorbents] Kyiv, 1996. 47p. (Ukrainian)
4. Avetlkov DS, Bondarenko VV, Netyuhaylo LG, Danilchenko SI. NO-ergichna sistema tkanin slinnih zaloz schuriv v umovah eksperimentalnoy opikovoy hvorobi [NO-ergic system of tissues of salivary glands of rats in conditions of experimental burn disease]. Visnik problem biologiyi i meditsini. 2012; 2 (93): 36-38. (Ukrainian)
5. Suhomlin TA, Netyuhaylo LG. Stan NO-ergichnoyi sistemi legen schuriv v umovah oplkovoYi hvorobi [Condition of the NO-ergic system of lungs of rats in conditions of burn disease]. Tavricheskiy mediko-biologicheskyy vestnik. 2012; 15: 315-317. (Ukrainian)
6. World Health Organization. Burns. Inf. Bulletin (Internet) WHO. 2016 Sept. – Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/ru/>.
7. Ostrovskiy NV. et al. Sravnitel'naya otsenka viyaniya lekarstvennykh sredstv dlya mestnogo lecheniya ran na zazhivlenie termicheskikh ozhogov II-III stepeni v eksperimente [Comparative assessment of the effect of drugs for local wound healing on the healing of thermal burns II-III degree in the experiment]. Fundamentalnyye issledovaniya. 2014; 6: 512-515. (Russian)
8. Sakharov SP. On background of ambustial trauma translocation of cultivated and uncultivated bacteria in an organism of rabbits of brand «Chinchilla». Eastern Eur. Sci. J. 2014; 6: 56-60.
9. Klimerko MO, Netyuhaylo LG. Oplkova hvoroba (patogenezi I likuvannya) [Burn disease (pathogenesis and treatment)]. Poltava, 2009: 118 p. (Ukrainian)
10. Utkin OV, Lebedev MYU, Novikov DV et al. Spektr matrichnykh RNK Fas-antigena mononuklearnykh kletok krov'i i syvorotocnoye sodержание rastvorimogo Fas u tyazhelooobozhzhennykh bolnykh [The spectrum of Fas antigen mononuclear cell count matrix RNA and serum soluble Fas content in severely burned patients]. Immunologiya. 2008; 29: 362-365. (Russian)
11. Sheridan RL, Hurford WE, Kacmarek RM. Inhaled nitric oxide in burn patients with respiratory failure. J Trauma. 1997; 42: 641-646.
12. Hevel JM. Purification of the inducible murene macrophage nitric oxide synthase. J. Biol. Chem. 1991; 266 (34): 22

под легким эфирным наркозом в течение 7 с. Размер участка повреждения определяли в зависимости от площади кожного покрова, которая в среднем составляла 12-15% поверхности тела животного. Площадь поражения рассчитывали с помощью специальной таблицы Кочетыгова. Гистологическое исследование поврежденной кожи свидетельствовало, что при вышеупомянутых условиях образовывался ожог IIIA-B степени, что, согласно современным представлениям, является стандартной моделью развития ожоговой болезни в эксперименте. Крыс декапитировали под эфирным наркозом через 1,7,14,21 суток, что, по современным представлениям, отвечает стадиям шока, ранней и поздней токсемии и септикотоксемии. Для оценки состояния NO-эргической системы определяли активность NO-синтазы (КФ 1.14.13.19) и содержания нитритов в тканях почек. Результаты. В зависимости от стадии ожоговой болезни изменения в NO-эргической системе имели свои особенности. Так, в почках, на первый день, в стадию ожогового шока активность NOS увеличивалось максимально, при этом пик увеличения содержания нитритов наблюдался на седьмой день, в стадию ранней токсемии. Выводы. Таким образом, в условиях длительной ожоговой болезни отмечалось повышение активности NO-эргической системы в почках крыс. Это можно объяснить активацией воспалительных процессов в почках в условиях ожоговой болезни и накоплением нитрит-ионов в почках.

Summary

NO-ERGIC SYSTEM IN RENAL TISSUE DURING BURN DISEASE

Basarab Ya.O.

Key words: NO-ergic system, renal tissue, burn disease.

This research aimed at studying the state of the NO-ergic system in renal tissue of rats in modelled burn disease. Materials and methods. The series of experiments were carried out on pubescent male rats. Burn disease was modeled according to the Dovgansky method: the shaved and depilated area of a hind limb of test animals was dipped into hot water ($t = 70 - 75 \text{ }^{\circ}\text{C}$) under ethereal anesthesia for 7 sec. The size of the site damaged was determined depending on the area of the skin, which averaged 12-15% of the animal's body surface. The area of the skin damaged was calculated using the special Kochetygov's table. Histological study of the damaged skin showed that under the above conditions there was a burn of IIIA-B degree that, according to modern conceptions, is considered as a standard model of the development of burn disease in the experiment. The rats were decapitated under ethereal anesthesia in 1, 7, 14, 21 days that in accordance with the modern ideas is commensurate with shock phases, early and late toxemia, and septicotoxemia. To evaluate the status of NO-ergic system, we assessed the NO-synthase activity and the nitrites content in the renal tissues. Results. Depending on the stage of burn disease, the NO-ergic system changed its characteristics. On the 1st day, at the stage of burn shock, the activity of NOS in renal tissues increased to its maximal level, while the peak increase in the content of nitrites was observed on the 7th day, at the stage of early toxemia. Conclusions. Thus, during the course of long-term burn disease, there is an increase in the activity of the NO-ergic system in kidney of rats. This can be explained by the enhancement of inflammatory processes in the kidneys under burn disease and by NO_2^- accumulation of in the renal tissues.