

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН МЕТАБОЛІТІВ НІТРОГЕН (II) ОКСИДУ ТА ЕНДОТЕЛІНУ-1 ПРИ ГОСТРОМУ УРАЖЕННІ ЛЕГЕНЬ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Вступ. При гострому ураженні легень (ГУЛ) і гострому респіраторному дистрес-синдромі (ГРДС) спостерігають структурні ушкодження альвеол, які розвиваються протягом годин та діб після закінчення дії первинного ушкоджувального фактора. Легеневий епітелій є найважливішим компонентом у механізмах розвитку та перебігу ГУЛ/ГРДС. Цим обґрунтовано дослідження нових механізмів впливу ушкоджувальних чинників на легеневу тканину й організм хворих із ГРДС.

Мета дослідження – вивчити вміст метаболітів нітроген (II) оксиду і концентрацію ендотеліну-1 в тканинах легень та обґрунтувати їх роль у патогенезі гострого ураження легень в експерименті.

Методи дослідження. Досліди було проведено на 54 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях, яким моделювали гостре ураження легень шляхом інтратрахеального введення хлоридної кислоти при рН 1,2 в дозі 1,0 мл/кг на вдиху. В гомогенаті тканин легень визначали вміст нітрит-аніона спектрофотометричним методом, рівень ендотеліну-1 – імуноферментним.

Результати й обговорення. Результати аналізу динаміки нітрит-аніона в легенях щурів з ГУЛ вказують на різке підвищення досліджуваного показника через 12 год експерименту, яке зберігалось до кінця доби. Відмічено, що через 2 та 6 год рівень NO_2^- збільшувався, відповідно, на 20,38 і 40,76 % порівняно з контролем ($p < 0,001$). У 4-й дослідній групі вміст нітрит-аніона зростав у 2,43 раза стосовно 3-ї дослідної групи і більш ніж утричі порівняно з контролем. Слід зазначити, що при визначенні ендотеліну-1 через 2 та 6 год його рівень підвищувався, відповідно, на 17,43 і 75,68 % порівняно з контролем ($p < 0,001$). У 4-й дослідній групі концентрація ендотеліну-1 зростала в 1,52 раза порівняно з 3-ю дослідною групою і в 2,67 раза порівняно з контрольною.

Висновки. При експериментальному гострому ураженні легень відбувається активація нітрооксид-ергічних процесів за рахунок достовірного збільшення вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду в гомогенаті легень. Гостре ураження легень у щурів супроводжується зростанням рівня ендотеліну-1 в гомогенаті легень з найвищими значеннями через 24 год спостереження.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гостре ураження легень; нітроген (II) оксид; ендотелін-1.

ВСТУП. Гостре ураження легень (ГУЛ) і гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) є обов'язковими компонентами синдрому поліорганної недостатності (СПОН) у хворих в критичних станах [1, 2]. Структурні ушкодження альвеоли розвиваються протягом годин і діб після закінчення дії первинного ушкоджувального фактора. Легеневий епітелій є найважливішим компонентом у механізмах розвитку та перебігу ГУЛ/ГРДС. Цей факт підкреслюють автори під час дослідження функцій синтезу сурфактанта альвеолоцитами другого порядку й участі в русі води та електролітів при розвитку набряку легень. Дезінтеграція альвеоло-капілярної мембрани – основна причина збільшення проникності

© В. О. Беський, М. І. Марущак, Л. А. Грищук, 2018.

й неконтрольованого руху білкових молекул з порушенням механіки легень та інактивацією сурфактанта [3, 4].

Сучасні уявлення про легеневу патологію пов'язані з порушенням функціонування нітрооксидергічної системи [5–7]. Нітроген (II) оксид (NO) в організмі людини і тварини є медіатором [8], беручи участь у регуляції артеріального тиску, передачі нервового імпульсу, згортанні крові, клітинній проліферації, має коригувальний вплив на апоптоз, виражену протизапальну й антитромботичну дію, проявляє антиоксидантні властивості [9, 10].

NO утворюється при окисненні L-аргініну – природної амінокислоти, що входить до складу протеїнів, під впливом конститутивних (ендо-

теліальної і нейрональної) та індукційної NO-синтази [11]. Середня тривалість життя молекули NO в організмі людини – менше 5 с, тому основну частку NO становлять продукти його окиснення, які й утворюють депо нітроген (II) оксиду [12].

Утворення ендогенного NO можна розглядати як механізм, який підтримує сталість стану гладких міоцитів у легеневої циркуляції, і, відповідно, недостатність синтезу або ж вивільнення NO зумовлює надмірну їх проліферацію. Результати проведених наукових досліджень вказують на те, що в нормальному легеневому руслі NO не лише сприяє адекватній вазодилатації, але й протидіє вазоконстрикторній дії гіпоксії та ендотеліну [13].

Втрата ендотелієзалежної релаксації судинами під час гіпоксії зумовлює підвищення їх тону, утворення тромбів, порушення мікроциркуляції, що призводить до проліферації гладких міоцитів [14].

Ендотеліни – група біологічно активних пептидів широкого спектра дії, які є одним із найважливіших регуляторів функціонального стану ендотелію, морфологічно пов'язаних з кров'ю, з одного боку, і з м'язовою стінкою судин – з іншого. Їх вазоконстрикторні ефекти супроводжуються змінами системної і регіонарної гемодинаміки. Найвідоміший з ендотелінів – ендотелін-1 – на даний час розглядають як маркер і предиктор тяжкості й результату ішемічної хвороби серця, зокрема гострого інфаркту міокарда, порушень ритму серця, легеневої і системної гіпертензії, атеросклеротичного ушкодження судин, специфічних судинних порушень [15].

Ендотелін-1 являє собою великий біциклічний поліпептид, що складається з комбінації 21 амінокислоти. У більшості випадків він утворюється в ендотеліальних клітинах, але, на відміну від інших ендотелінів, може синтезуватися в клітинах гладеньких м'язів судин, нейронах, астроцитах, ендометрії, гепатоцитах, мезангіоцитах, клітинах Сертолі, ендотеліоцитах молочних залоз, тканинних базофілах [16]. У нормі концентрація ендотеліну-1 в плазмі крові людини становить 0,1–1 фмоль/мл або не виявляється зовсім. 75–80 % вивільненого ендотелієм ендотеліну-1 виявляють у клітинах гладеньких м'язів судин. Період напіврозпаду ендотеліну-1 в плазмі крові становить 4–7 хв, 80–90 % його інактивується вже під час першого проходження через судини легень [17].

При дослідженні рівня ендотеліну-1 в гомогенаті тонкої кишки було припущено, що він може впливати на карбонілювання білків при караганіндукованому гастроентероколіті [18]. Ендотелін-1 утворюється з неактивного попередника

безпосередньо перед секрецією, не накопичуючись у секреторних гранулах ендотеліальних клітин. Основними активаторами синтезу ендотеліну-1 в організмі є гіпоксія, ішемія, гострий стрес [19]. Ці чинники активують транскрипцію іРНК, синтез попередників ендотеліну, перетворення їх в ендотелін-1 і його секрецію за кілька хвилин [20]. Водночас катехоламіни, ангіотензин II, ліпопротеїни високої щільності, фактори росту, тромбін, тромбоксан А2, іони кальцію та форболовий ефір активують внутрішньоклітинні механізми синтезу ендотеліну-1 без взаємодії з рецепторами плазмолемі шляхом безпосереднього впливу на протеїн С і вивільнення іонів кальцію із саркоплазматичного ретикулула [21].

Мета дослідження – вивчити вміст метаболітів нітроген (II) оксиду і концентрацію ендотеліну-1 в тканинах легень та обґрунтувати їх роль у патогенезі гострого ураження легень в експерименті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди було проведено на 54 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 200–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. При виконанні досліджень дотримувалися положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [22].

Тварин поділили на 5 груп: 1-ша – контрольна (n=6); 2-га – ураження хлоридною кислотою тривалістю 2 год (n=12); 3-тя – ураження хлоридною кислотою тривалістю 6 год (n=12); 4-та – ураження хлоридною кислотою тривалістю 12 год (n=12); 5-та – ураження хлоридною кислотою тривалістю 24 год (n=12).

Щурів анестезували шляхом внутрішньочеревного введення тіопентал-натрію в дозі 40 мг/кг маси тварини. Вентральну сторону шиї обробляли хлоргексидином, робили серединний розріз довжиною 0,5 см для візуалізації трахеї. Тварин розміщували горизонтально під кутом 45°, інсуліновим шприцом вводили в трахею HCl при рН 1,2 в дозі 1,0 мл/кг на вдиху. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин у дозі 1,0 мл/кг.

Через 2, 6, 12 та 24 год здійснювали еутаназію щурів шляхом введення тіопентал-натрію в дозі 90 мг/кг маси тварини, дотримуючись правил гуманного ставлення до тварин. У гомогенаті тканин легень визначали вміст нітрит-аніона спектрофотометричним методом, використовуючи реактив Грісса, який дає малинове забарвлення за наявності метаболітів NO. Рівень ен-

дотеліну-1 в гомогенаті легень визначали імуноферментним методом за допомогою набору реактивів фірми "Amersham" (Велика Британія).

Для приготування гомогенату фрагменти легень у замороженому вигляді подрібнювали до порошкоподібного стану. Гомогенат готували в 0,25 М трис-НСІ, що містить 0,32 М сахарози [23].

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Excel (Microsoft, США) і STATISTICA 6.0 (Statsoft, США) з використанням параметричних та непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників обчислювали середню арифметичну варіаційного ряду (M), стандартну похибку середньої арифметичної (m) та достовірність відмінностей (p).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Характеризуючи кількість нітрит-аніона в гомогенаті легень експериментальних тварин з ГУЛ, слід зазначити, що ця величина достовірно зростала протягом нашого спостереження. Через 2 та 6 год рівень NO₂⁻ збільшувався, відповідно, на 20,38 і 40,76 % порівняно з контролем (p<0,001). У 4-й дослідній групі вміст нітрит-аніона зростав у 2,43 раза стосовно 3-ї дослідної групи і більш ніж утричі порівняно з контролем. Отримані на 12 год експерименту дані не змінювались і через добу досліді (p>0,05), але залишались достовірно високими щодо контролю (p<0,001) (табл. 1).

За умов оксидативного стресу NO взаємодіє із супероксидним аніоном, у результаті чого утворюється пероксинітрит. Саме з ним пов'язана ушкоджувальна дія NO на біологічні макро-

молекули, зокрема білки та ліпіди, що, у свою чергу, призводить до зрушення рівноваги між процесами інактивації активних форм кисню, яке зумовлює порушення структури і функції клітинних мембран та закінчується смертю клітини [11].

Результати аналізу динаміки нітрит-аніона в легенях щурів з ГУЛ вказують на різке зростання досліджуваного показника через 12 год досліді, яке зберігалось до кінця доби, що свідчить про залучення до патофізіологічного каскаду НСІ-індукованого гострого ураження легень ендотеліальних фізіологічних механізмів. На це вказує активація ендотеліального розслаблювального чинника, основним стимулятором якого є нітроген (II) оксид, що регулює місцевий судинний тонус та кровотік. Враховуючи це, було досліджено концентрацію ендотеліну-1 в супернатанті гомогенату легень щурів із змодельованим ГУЛ.

При визначенні ендотеліну-1 в гомогенаті легень експериментальних тварин з ГУЛ слід відмітити, що ця величина достовірно зростала протягом нашого спостереження. Через 2 та 6 год рівень ендотеліну-1 збільшувався, відповідно, на 17,43 і 75,68 % порівняно з контролем (p<0,001). У 4-й дослідній групі концентрація ендотеліну-1 зростала в 1,52 раза порівняно з 3-ю дослідною групою і в 2,67 раза порівняно з контролем. У тварин 5-ї дослідної групи рівень ендотеліну-1 практично не змінювався і через добу досліді (p>0,05), але залишався достовірно високим щодо контролю (p<0,001) (табл. 2).

Отже, згідно з нашими даними, оксидативні процеси в легенях рівномірно посилюються протягом доби і через 24 год експерименту

Таблиця 1 – Рівень нітрит-аніона в гомогенаті легень при експериментальному гострому ураженні легень (M±m)

Показник	Група				
	контрольна (n=6)	2-га дослідна (n=12)	3-тя дослідна (n=12)	4-та дослідна (n=12)	5-та дослідна (n=12)
NO ₂ ⁻ , мкмоль/г	1,57±0,01	1,89±0,03*	2,21±0,08* p ₁ <0,001	5,38±0,16* p ₂ <0,01	5,49±0,13* p ₃ >0,05

Примітки. Тут і в таблиці 2:

1. * – достовірність відмінностей між контрольною і дослідною групами в даний термін обстеження.

2. p₁ – достовірність відмінностей між дослідними групами на 2 і 6 год після моделювання гострого ураження легень; p₂ – достовірність відмінностей між дослідними групами на 6 і 12 год; p₃ – достовірність відмінностей між дослідними групами на 12 і 24 год.

Таблиця 2 – Рівень ендотеліну-1 в гомогенаті легень при експериментальному гострому ураженні легень (M±m)

Показник	Група				
	контрольна (n=6)	2-га дослідна (n=12)	3-тя дослідна (n=12)	4-та дослідна (n=12)	5-та дослідна (n=12)
Ендотелін-1, пг/г	2,18±0,01	2,56±0,05*	3,83±0,06* p ₁ <0,001	5,82±0,10* p ₂ <0,001	6,07±0,14* p ₃ >0,05

майже втричі перевищують показники контрольної групи ($p < 0,001$). Нітрозилування сульфгідрильних центрів у білках є характерною особливістю модифікуючої дії NO та пероксинітриту, що призводить до глибоких змін білкової структури. Внаслідок агрегації та фрагментації білків зростає їх протеолітична деградація. Підвищення продукції NO при ГУЛ, індукованому інтратрахеальним введенням гідрохлоридної кислоти, можна розглядати як результат активації NO-синтази внаслідок транскрипції ядерного фактора NF- κ B під дією прозапальних цитокінів та оксидантів [23]. Надмірна генерація метаболітів NO, активних форм кисню створює умови для утворення пероксинітриту – сильної діючої оксиданта, що здатний ушкоджувати альвеолярний епітелій та легеневи сурфактант. Він викликає руйну-

вання білків і ліпідів мембран, що підтверджується результатами нашого дослідження.

Аналізуючи значення нітросидергічних механізмів, можна говорити про важливу роль нітроген (II) оксиду, пероксинітриту та, за даними ряду авторів, нітротирозину, що є основним продуктом дії пероксинітриту на протеїн, у патогенезі гострого ураження легень [23].

ВИСНОВКИ. 1. При експериментальному гострому ураженні легень відбувається активація нітросидергічних процесів за рахунок достовірного збільшення вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду в гомогенаті легень.

2. Гостре ураження легень у щурів супроводжується підвищенням рівня ендотеліну-1 в гомогенаті легень з найвищими значеннями через 24 год спостереження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ware L. B. The acute respiratory distress syndrome / L. B. Ware, M. A. Matthay // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – No. 342 (1). – P. 1334–1349.
2. Future research directions in acute lung injury (summary of a National Heart, Lung and Blood Institute Working Group) // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – No. 167 (2). – P. 1027–1035.
3. Park W. Y. Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome / W. Y. Park, R. B. Goodman, K. P. Steinberg // *Am. J. Respir. Care Med.* – 2001. – No. 164. – P. 1896–1903.
4. Gharib S. A. Computational identification of key biological modules and transcription factors in acute lung injury / S. A. Gharib, W. C. Liles, G. Matute-Bello // *Am. J. Respir. Care Med.* – 2006. – No. 173. – P. 653–658.
5. Kharitonov S. A. Clinical aspects of exhaled nitric oxide / S. A. Kharitonov, P. J. Barnes // *Eur. Respir. J.* – 2000. – **16**. – P. 781–792.
6. Sergei Kharitonov A. Repeatability of standardised nasal nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children / Sergei A. Kharitonov, Lynda Walker, Peter J. Barnes // *Respiratory Medicine*. – 2005. – **99**. – P. 1105–1114.
7. Марущак М. І. Нітросидергічні аспекти патогенезу гострого ураження легень в експерименті / М. І. Марущак // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція*. – 2011. – № 3 (06). – С. 69–73.
8. Ященко Ю. Б. Неінвазивний метод діагностики дихальних розладів легеневого походження у новонароджених при критичних станах : метод. рек. / Ю. Б. Ященко, О. Г. Буряк. – К. : Укрмедпатентінформ, 2010. – 25 с.
9. Ященко Ю. Б. Нерешенные вопросы использования оксида азота в качестве маркера диагностики и лечебного средства в неонатологии / Ю. Б. Ященко, А. Г. Буряк // *Современная педиатрия*. – 2010. – **4**, № 32. – С. 97–100.
10. Ковалева О. Н. Состояние системы оксида азота при формировании гипертензивного сердца / О. Н. Ковалева, О. А. Нижегородцева // *Укр. кардіол. журн.* – 2003. – № 3. – С. 71–75.
11. Ванін А. Ф. Оксид азота – регулятор клеточного метаболизма / А. Ф. Ванін // *Соросовский образовательный журн.* – 2001. – **7**, № 11. – С. 7–12.
12. Недоспасов А. А. Биогенные оксиды азота / А. А. Недоспасов, Н. В. Беда // *Природа*. – 2005. – № 7. – С. 35–42.
13. Sittipunt C. Nitric oxide and nitrotyrosine in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome / C. Sittipunt, K. P. Steinberg, J. T. Ruzinski [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – **163**. – P. 503–510.
14. Huffmyer J. L. Respiratory dysfunction and pulmonary disease in cirrhosis and other hepatic disorders / J. L. Huffmyer, E. C. Nemergut // *Respir. Care*. – 2007. – **52**. – P. 1030–1036.
15. Ватутин Н. Т. Эндотелины и сердечно-сосудистая патология [Электронный ресурс] / Н. Т. Ватутин, Н. В. Калинкина, А. Л. Демидова. – Режим доступа : http://journal.ukrcardio.org/cardio_archive/2006/1/vatutin.htm.
16. Динамика показателей эндотелийзависимой вазодилатации и гипотензивная эффективность энalapрила у пациентов с артериальной гипертензией / В. Ф. Мордовин, Т. М. Рипп, С. Е. Соколов [и др.] // *Кардиология*. – 2001. – № 6. – С. 31–33.
17. Correlations between clinical presentation, brain natriuretic peptide, big endothelin-1, tumor necrosis factor-alpha and cardiac troponins in heart failure patients / G. M. Boffa, M. Zaninotto, E. Vacchiuga [et al.] // *Ital. Heart J.* – 2005. – **6**. – P. 125–132.
18. Влияние длительного перорального употребления пищевой добавки каррагинан на уровень карбонилированных белков в сыворотке крови крыс /

A. С. Ткаченко, С. Н. Мартынова, И. М. Васильева, М. А. Ткаченко // Вісн. проблем біології і медицини. – 2016. – 4, № 1 (133). – С. 200–202.

19 Willey K. E. Nitric oxide-medulation of the endothelin-1 signaling pathway in the human cardiovascular system / K. E. Willey, A. P. Davenport // *Brit. J. Pharmacology*. – 2001. – 132. – P. 213–220.

20. Биохимия и физиология семейства эндотелинов / С. А. Патарая, Д. В. Преображенский, Б. А. Сидоренко, В. П. Масенко // *Кардиология*. – 2000. – 40, № 6. – С. 78–85.

21. Cardiac endothelin system impairs left ventricular function in rennin-dependent hypertension via sarcoplas-

mic reticulum Ca²⁺ uptake/ L. Rothermund, Y. M. Pinto, B. Hoher [et al.] // *Circulation*. – 2000. – 102. – P. 1582–1588.

22. European convention to the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – No. 123 – 52p.

23. Зміни концентрації NO₂ в біологічних рідинах при захворюванні на рак шлунка / О. Я. Скляр, Н. В. Фартушок, І. П. Федорович [та ін.] // *Мед. хімія*. – 6, № 3. – С. 55–57.

REFERENCES

1. Ware, L.B., & Matthay M.A. (2000). The acute respiratory distress syndrome. *N. Engl. J. Med.*, 342 (1), 1334-1349.

2. Future research directions in acute lung injury (summary of a National Heart, Lung and Blood Institute Working Group) (2003). *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 167(2), 1027-1035.

3. Park, W.Y., Goodman, R.B., & Steinberg, K.P. (2001). Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir. Care Med.*, 164, 1896-1903.

4. Gharib, S.A., Liles, W.C., & Matute-Bello, G. (2006). Computational identification of key biological modules and transcription factors in acute lung injury. *Am. J. Respir. Care Med.*, 173, 653-658.

5. Kharitonov, S.A., & Barnes, P.J. (2000). Clinical aspects of exhaled nitric oxide. *Eur. Respir. J.*, 16, 781-792.

6. Sergei Kharitonov A., & Lynda Walker, Peter J. Barnes (2005). Repeatability of standardised nasal nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Respiratory Medicine*, 99, 1105-1114.

7. Marushchak, M.I. (2011). Nitroksyderhichni aspekty patohenezu hostroho urazhennia lehen v eksperymentni [Nitroxydergic aspects of the pathogenesis of acute lung injury in the experiment]. *Tuberkulioz, lehenevi khvoroby, VIL-infektsiia – Tuberculosis, Pulmonary Diseases, HIV Infection*, 3 (06), 69-73 [in Ukrainian].

8. Yashchenko, Yu.B. (2010). *Neinvazyvnyi metod diahnozyky dykhalnykh rozladiv lehenevoho pokhodzhennia u novonarodzhenykh pry krytychnykh stanakh (metodychni rekomendatsii) [Noninvasive method of diagnostics of respiratory disturbances of pulmonary origin in newborns in critical conditions (methodical recommendations)]*. Kyiv: Ukrmedpatentinform [in Ukrainian].

9. Yashchenko, Yu.B. (2010). Nereshennyye voprosy ispolzovaniya oksida azota v kachestve markera diagnostiki i lechebnogo sredstva v neonatologii [Unresolved issues of the use of nitric oxide as a diagnostic marker and therapeutic agent in neonatology]. *Sovremennaya pediatriya – Modern Pediatrics*, 4 (32), 97-100 [in Russian].

10. Kovaleva, O.N., & Nizhegorodtseva, O.A. (2003). Sostoyaniye sistemy oksida azota pri formirovani gipertenzivnogo serdtsa [The state of the nitric oxide system in the formation of the hypertensive heart] *Ukr. kardiolog. zhurn. – Ukrainian Cardiology Journal*, 3, 71-75 [in Russian].

11. Vanin A.F. (2001). Oksid azota – regulyator kletochnogo metabolizma [Nitric oxide is a regulator of cellular metabolism]. *Sorosovskiy obrazovatelnyy zhurnal – Soros Educational Journal*, 7 (11), 7-12 [in Russian].

12. Nedospasov, A.A., & Beda, N.V. (2005). Biogennyye oksidy azota [Biogenic nitrogen oxides]. *Priroda – Nature*, 7, 35-42 [in Russian].

13. Sittipunt C., Steinberg K.P., Ruzinski J.T., Carpantato M., Sha Z., Goodman R., Sadis M., Martin T. (2001). Nitric oxide and nitrotyrosine in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163, 503-510.

14. Huffmyer J.L, Nemergut E.C. (2007). Respiratory dysfunction and pulmonary disease in cirrhosis and other hepatic disorders. *Respir. Care*. 52,1030-1036.

15. Vatutin N.T., Kalinkina N.V., Demidov A.L.. Endothelins and cardiovascular pathology. – Retrieved from: http://journal.ukrcardio.org/cardio_archive/2006/1/vatutin.htm.

16. Mordovin, V.F., Ripp, T.M., & Sokolov, S.Ye. (2001). Dinamika pokazateley endotelizyavisimoy vazodilatatsii i gipotenzivnaya effektivnost enalaprila u patsiyentov s arterialnoy gipertenziyey [Dynamics of indices of endothelium-dependent vasodilatation and hypotensive efficacy of enalapril in patients with arterial hypertension]. *Kardiologiya – Cardiology*, 6, 31-33 [in Russian].

17. Boffa, G.M., Zaninotto, M., & Bacchiega, E. (2005). Correlations between clinical presentation, brain natriuretic peptide, big endothelin-1, tumor necrosis factor-alpha and cardiac troponins in heart failure patients. *Ital. Heart J.*, 6, 125-132.

18. Tkachenko, A.S., Martynova, S.N., Vasilyeva, I.M., & Tkachenko, M.A. (2016). Vliyaniye dlitel'nogo peroral'nogo upotrebleniya pishchevoy dobavki karraginan na

uroven karbonilirovannykh belkov v syvorotke krvi kryс [Effect of prolonged oral intake of food additive carra-geenan on the level of carbonylated proteins in the serum of rats] *Visnyk problem biolohii i medytsyny – News of Problems of Biology and Medicine*, 4 (1) (133), 200-202 [in Russian].

19. Willey, K.E., & Davenport, A.P. (2001). Nitric oxide-medulation of the endothelin-1 signaling pathway in the human cardiovascular system. *Brit. J. Pharmacology*, 132, 213-220.

20. Pataraya, S.A., Preobrazhenskiy, D.V., Sidorenko, B.A., & Masenko, V.P. (2000). Biokhimiya i fiziologiya semeystva endotelinov [Biochemistry and physiology of the endothelin family]. *Kardiologiya – Cardiology*, 40 (6), 78-85 [in Russian].

21. Rothermund, L., Pinto, Y.M., Hocher, B., Vetter, R., Leggewie, S., Kobmehl, P., Orzechowski, H.D., Kreutz, R., & Paul, M. (2000) Cardiac endothelin system impairs left ventricular function in rennin-dependent hypertension via sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ uptake. *Circulation*, 102, 1582-1588.

22. European convention to the protection of vertebrate animals used for eksperymental and ather scientific purposes (1986). *Council of Europe. Strasbourg*.

23. Sklyarov, O.Ya., Fedorovych, I.P., & Korobov, V.M. (2004). Zminy kontsentratsii NO₂- v biolohichnykh ridynakh pry zakhvoriuvanniakh na rak shlunka [Changes in concentration of NO₂- in biological fluids in diseases of stomach cancer]. *Med. khimiya – Med. Chemistry*, 6 (3), 55-57 [in Ukrainian].

В. О. Беский¹, М. И. Маруцак², Л. А. Гришук²

ТЕРНОПОЛЬСКАЯ УНИВЕРСИТЕТСКАЯ БОЛЬНИЦА¹

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО²

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ МЕТАБОЛИТОВ НИТРОГЕН (II) ОКСИДА И ЭНДОТЕЛИНА-1 ПРИ ОСТРОМ ПОРАЖЕНИИ ЛЕГКИХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме

Вступление. При остром поражении легких (ОПЛ) и остром респираторном дистресс-синдроме (ОРДС) наблюдаются структурные повреждения альвеол, которые развиваются в течение часов и дней после окончания действия первичного повреждающего фактора. Легочный эпителий является важнейшим компонентом в механизмах развития и течения ОПЛ/ОРДС. Этим обоснованы исследования новых механизмов воздействия повреждающих факторов на легочную ткань и организм больных с ОРДС.

Цель исследования – изучить содержание метаболитов нитроген (II) оксида и концентрацию эндотелина-1 в тканях легких и обосновать их роль в патогенезе острого поражения легких в эксперименте.

Методы исследования. Опыты были проведены на 54 белых половозрелых нелинейных крысах-самцах, которым моделировали острое поражение легких путем интратрахеального введения хлоридной кислоты при pH 1,2 в дозе 1,0 мл/кг на вдохе. В гомогенате тканей легких определяли содержание нитрит-аниона спектрофотометрическим методом, уровень эндотелина-1 – иммуноферментным.

Результаты и обсуждение. Результаты анализа динамики нитрит-аниона в легких крыс с ОПЛ указывают на резкое повышение исследуемого показателя через 12 ч эксперимента, которое сохранялось до конца суток. Отмечено, что через 2 и 6 ч уровень NO₂⁻ увеличивался, соответственно, на 20,38 и 40,76 % по сравнению с контролем (p<0,001). В 4-й исследовательской группе содержание нитрит-аниона возрастало в 2,43 раза по отношению к 3-й исследовательской группе и более чем в три раза по сравнению с контролем. Следует отметить, что при определении эндотелина-1 через 2 и 6 ч его уровень повышался, соответственно, на 17,43 и 75,68 % по сравнению с контролем (p <0,001). В 4-й исследовательской группе концентрация эндотелина-1 возрастала в 1,52 раза по сравнению с 3-й исследовательской группой и в 2,67 раза по сравнению с контрольной.

Выводы. При экспериментальном остром поражении легких происходит активация нитроксицергических процессов за счет достоверного увеличения содержания метаболитов нитроген (II) оксида в гомогенате легких. Острое поражение легких у крыс сопровождается возрастанием уровня эндотелина-1 в гомогенате легких с самыми высокими значениями через 24 ч наблюдения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острое поражение легких; нитроген (II) оксид; эндотелин-1.

PECULIARITIES OF METABOLITES CHANGES OF NITROGEN (II) OXIDE AND ENDOTHELIN-1 IN ACUTE LUNG INJURY IN EXPERIMENT

Summary

Introduction. Structural damage to the alveoli is observed when acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS), which develops within hours and days after the end of the primary damaging factor. Pulmonary epithelium is an important component in the mechanisms of development and course of ALI/ARDS. This justifies the research of new mechanisms of the influence of damaging factors on the pulmonary tissue and the organism of ARDS patients.

The aim of the study – to learn the content of metabolites of nitrogen (II) oxide and the concentration of endothelin-1 in the lung tissues and to justify their role in the pathogenesis of acute lung injury in the experiment.

Research Methods. Experiments were conducted on 54 white nonlinear male-rats, which were modulated acute lung injury by intratracheal administration of hydrochloric acid at pH 1.2 at a dose of 1.0 ml/kg per breath. The content of nitrite anion was determined in homogenates of lung tissues by spectrophotometric method, the level of endothelin-1 by the enzyme immunoassay method.

Results and Discussion. Analysis of the nitrite anion in the lungs of rats with ALI indicates a sharp increase in the index under study after 12 hours of experiment, which lasts until the end of the day. It was noted that after 2 and 6 hours, the level of NO₂ increased by 20.38 % and 40.76 %, respectively, compared with the control (p < 0.001). In the fourth research group, the nitrite anion content increases by 2.43 times, in relation to the 3rd test group, and by more than three times as compared with the results of the control. It should be noted that in determining endothelin 1 at 2 and 6 hours, its level increases by 17.43 % and 75.68 %, respectively, compared with the control (p < 0.001). In the 4th study group, the endothelin 1 concentration increased 1.52 times compared to the 3rd experimental group and 2.67 times compared to the control group.

Conclusions. In experimental acute lung injury, activation of nitroxidergic processes occurs due to a significant increase in nitrogen oxide metabolites in the lung homogenate. Acute lung damage in rats is accompanied by an increase in the level of endothelin-1 in the lung homogenate with the highest values after 24 hours of observation.

KEY WORDS: acute lung injury; nitric oxide; endothelin 1.

Отримано 25.04.18

Адреса для листування: Л. А. Гришук, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: hrischuk@ukr.net.