

## РОЛЬ СИСТЕМИ МОНООКСИДУ АЗОТУ В ПАТОГЕНЕЗІ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ПОЛІТРАВМІ

**Вступ.** Монооксид азоту (NO) – один із найважливіших медіаторів внутрішньоклітинної і міжклітинної взаємодії в нейроімуноендокринній системі. Крім вазодилатуючих, нейротрансмітерних і стреслімітувальних властивостей, безсумнівною є участь NO у формуванні нітрооксидативного стресу, глутамат-кальцієвого каскаду та запалення. Реактивні азотні структури, за даними багатьох науковців, беруть участь у патогенезі ушкоджень тканин, спричинених травмами.

**Мета дослідження** – визначити роль системи монооксиду азоту в патогенезі ураження печінки при політравмі на основі вивчення динаміки загальної NOS та кінцевих метаболітів монооксиду азоту за умов використання селективного і неселективного інгібіторів NOS.

**Методи дослідження.** Дослідження виконано на лабораторних безпородних білих щурах-самцях масою 180–200 г. Для з'ясування ролі NO в патогенезі ураження печінки при політравмі застосовано неселективний інгібітор NOS – L-NAME та селективний інгібітор iNOS – 1400W. Було досліджено активність NOS і вміст стабільних кінцевих метаболітів оксиду азоту в гомогенатах печінки та сироватці крові піддослідних тварин на 1-шу, 3-тю, 7-му доби моделювання політравми. Активність ферментів аланін- та аспартатамінотрансфераз, лужної фосфатази, гаммаглутамілтрансептидази визначали, використовуючи стандартні набори реактивів. Для встановлення стану системи монооксиду азоту колориметрично за кількістю утворених нітратів і нітритів в інкубаційному середовищі визначали сумарну активність синтази монооксиду азоту – NOS. Загальний вміст нітратів і нітритів у печінці й крові визначали за методом Гріса.

**Результати й обговорення.** У процесі розвитку експериментальної травматичної хвороби спостерігали підвищену активність індукцибельної форми NOS та надмірне продукування монооксиду азоту в печінці й крові щурів. Застосування неселективного інгібітора NOS – L-NAME та селективного інгібітора iNOS – 1400W довело безпосередню роль монооксиду азоту в патогенезі розвитку ускладнень з боку печінки внаслідок політравми.

**Висновок.** Отримані результати експериментальних досліджень дають підставу стверджувати, що спрямоване підвищення активності системи монооксиду азоту може бути перспективним засобом профілактики печінкової дисфункції при політравмі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: політравма; печінка; NO-синтаза; монооксид азоту.

ВСТУП. Патогенез багатьох захворювань, у тому числі й травматичної хвороби, розглядають з позицій дерегуляції [1, 2]. Регуляторна система в організмі людини представлена трьома основними ланками (нервовою, імунною та ендокринною), взаємодія яких забезпечується нейротрансмітерами, нейропептидами, гормонами, цитокінами, трофічними факторами через відповідний рецепторний апарат, і, з сучасних позицій, визначається як єдина нейроімуноендокринна система [3, 4]. З одного боку, узгоджене функціонування ланок цієї системи визначає надійність їх спільної діяльності, з іншого – створюється ризик розвитку функціональних розладів загальної регуляторної системи при первинному ураженні однієї з підсистем [1].

© О. О. Кулянда, 2018.

Монооксид азоту (NO) є одним із найважливіших медіаторів внутрішньоклітинної і міжклітинної взаємодії в нейроімуноендокринній системі [5–7].

Крім вазодилатуючих, нейротрансмітерних і стреслімітувальних властивостей, безсумнівною є участь NO у формуванні нітрооксидативного стресу, глутамат-кальцієвого каскаду і запалення [7, 8]. Реактивні азотні структури, за даними багатьох науковців, беруть участь у патогенезі ушкоджень тканин, спричинених травмами [9–11].

Мета дослідження – визначити роль системи монооксиду азоту в патогенезі ураження печінки при політравмі на основі вивчення динаміки загальної NOS та кінцевих метаболітів монооксиду азоту за умов використання селективного і неселективного інгібіторів NOS.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження виконано на лабораторних безпородних білих щурах-самцях масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. У процесі роботи використано 100 тварин.

Досліди проводили відповідно до положень Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001), Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Комісія з біоетики Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського порушень етичних норм при виконанні досліджень не виявила (протокол № 23 від 05.05.2014 р.).

Для з'ясування ролі NO в патогенезі ураження печінки при політравмі застосовано неселективний інгібітор NOS – L-NAME та селективний інгібітор iNOS – 1400W. Було досліджено активність NOS і вміст стабільних кінцевих метаболітів оксиду азоту в гомогенатах печінки та сироватці крові піддослідних тварин на 1-шу, 3-тю, 7-му доби моделювання політравми.

Усіх піддослідних тварин було поділено на 4 групи: 1-ша – контрольна (інтактні тварини); 2-га – тварини з моделлю політравми, яким не проводили медикаментозної корекції; 3-тя – тварини з моделлю політравми з корекцією неселективним інгібітором NOS – L-NAME ("Sigma", США) в дозі 10 мг/кг; 4-та – тварини з моделлю політравми з корекцією селективним інгібітором iNOS – 1400W ("Sigma", США) у дозі 1,5 мг/кг.

Препарати вводили за 10 хв до початку моделювання політравми та через рівні проміжки часу протягом відповідних термінів спостереження. У всіх досліджуваних групах, окрім контрольної, було відтворено модель політравми за Кенноном у модифікації Д. В. Козак (2011). Дослідження проводили на 1-шу, 3-тю та 7-му доби експерименту, що відповідає ранньому

періоду розвитку травматичної хвороби (О. Г. Калинин, 2013).

Активність ферментів аланін- і аспартатамінотрансфераз (АлАТ, АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), гаммаглутамілтранспептидази (ГГТП) визначали, використовуючи стандартні набори реактивів ТОВ НВП "Філісіт-Діагностика".

Для встановлення стану системи монооксиду азоту колориметрично за кількістю утворених нітратів і нітритів в інкубаційному середовищі визначали сумарну активність синтази монооксиду азоту – NOS (D. Stuehr et al., 1991). Загальний вміст нітратів і нітритів у печінці й крові визначали за методом Гріса після відновлення нітратів до нітритів за допомогою кадмію (І. О. Кіселик та ін., 2001; L. Ridnour, 2000).

Одержаний цифровий матеріал обробляли у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського з використанням програм Exel (Microsoft, США) і STATISTICA (StatSoft Inc., США).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Проведене експериментальне дослідження було спрямовано на визначення ролі монооксиду азоту в механізмах ушкоджень печінки при експериментальній політравмі на основі вивчення динаміки загальної NOS та кінцевих метаболітів монооксиду азоту за умов використання селективного і неселективного інгібіторів NOS.

У ранній період травматичної хвороби загальна активність NO-синтази печінки зросла на 1-шу добу у 2 рази. Проведення корекції NO-синтазної активності неселективним інгібітором – L-NAME призвело до її зниження порівняно з даними тварин 2-ї групи. Так, на 1-шу добу експерименту активність NOS у щурів 3-ї групи достовірно зменшилась на 43,9 %, на 3-тю – на 26,2 %, а на 7-му – достовірно не відрізнялась від показників тварин 2-ї групи (табл. 1).

Таблиця 1 – Показники системи монооксиду азоту при політравмі після корекції L-NAME ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показник	Група тварин						
	контроль	2-га			3-тя		
		1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба
NOS, нмоль/мг білка×хв (печінка)	19,20±0,22	30,78±0,96 $p_1 < 0,001$	25,42±0,29 $p_1 < 0,001$	21,12±1,90 $p_1 < 0,001$	17,27±0,24 $p_1 < 0,001$	18,60±0,20 $p_1 < 0,001$	18,86±0,18 $p_1 > 0,05$
NO <sub>x</sub> , ммоль/л (кров)	6,32±0,48	14,07±0,17 $p < 0,001$	13,25±0,08 $p < 0,001$	11,50±0,14 $p < 0,001$	5,98±0,30 $p_1 < 0,001$	9,89±0,50 $p_1 < 0,001$	8,34±0,47 $p_1 < 0,001$
NO <sub>x</sub> , ммоль/кг (печінка)	2,61±0,16	4,85±0,14 $p < 0,001$	4,05±0,08 $p < 0,001$	3,95±0,12 $p < 0,001$	1,91±0,17 $p_1 < 0,001$	2,23±0,16 $p_1 < 0,001$	2,97±0,13 $p_1 < 0,001$

Примітки. Тут і в таблицях 2–8:

1.  $p$  – достовірність відмінностей відносно інтактних тварин.

2.  $p_1$  – достовірність відмінностей відносно тварин із моделлю політравми без проведення корекції.

Застосування протягом експерименту селективного інгібітора iNOS – 1400W (4-та група) також пригнічувало загальну активність NO-синтази, проте значно меншою мірою. Так, на 1-шу добу активність ферменту була на 17,7 %, а на 3-тю – на 9,1 % достовірно нижчою за відповідні показники тварин 1-ї групи. На 7-му добу активність загальної NO-синтази достовірно не відрізнялась від відповідного показника щурів 2-ї групи (табл. 2).

Введення травмованим тваринам неселективного інгібітора – L-NAME викликало більш значне зниження пікової концентрації метаболітів NO в сироватці крові. Даний показник у щурів 3-ї групи, порівняно з 2-ю, на 1-шу добу був достовірно меншим на 57,5 %. На 3-тю і 7-му доби після продовження корекції він збільшився, проте був, відповідно, на 25,4 і 27,5 % нижчим, ніж у тварин 2-ї групи, яким не проводили корекції неселективним інгібітором синтезу монооксиду азоту (табл. 1).

На відміну від L-NAME, введення травмованим тваринам селективного інгібітора NOS – 1400W мало менший вплив на кінетику продукції кінцевих продуктів NO (табл. 2).

Так, у 4-й групі на 1-шу добу вміст метаболітів монооксиду азоту достовірно знизився на 41,5 %, на 3-тю – на 17,7 %, а на 7-му – на 19,8 %.

Застосування неселективного інгібітора NOS – L-NAME, як і селективного – 1400W, призвело до достовірного зменшення в крові щурів вмісту кінцевих метаболітів монооксиду азоту. При цьому L-NAME знижував дані показники більше, ніж 1400W.

Суттєві зміни з боку  $NO_x$  спостерігали в печінці щурів, яким вводили неселективний і селективний інгібітори синтезу монооксиду азоту.

Обидва препарати зменшували вміст кінцевих продуктів обміну NO.

Застосування неселективного інгібітора – L-NAME достовірно знижувало (у 2,5 раза) вже на 1-шу добу рівень метаболітів монооксиду азоту в тканині печінки тварин 3-ї групи. На 3-тю і 7-му доби їх концентрація достовірно зменшилась, відповідно, на 44,9 та 24,8 % (табл. 1).

Разом із тим, дещо іншу динаміку даних показників спостерігали при застосуванні селективного інгібітора – 1400W. Рівень їх зниження був менш вираженим, ніж у тварин 3-ї групи. Так, на 1-шу добу концентрація кінцевих продуктів NO достовірно знизилась лише на 32,3 %. На 3-тю і 7-му доби концентрація метаболітів монооксиду азоту в щурів 3-ї групи зменшилась, відповідно, на 23,5 та 22,8 % (табл. 2).

Таким чином, неселективний інгібітор синтезу монооксиду азоту знижував дані показники і в сироватці крові, і в тканині печінки більше, ніж селективний.

Про ушкодження мембранних структур гепатоцитів свідчать результати досліджень органоспецифічного ферменту – лужної фосфатази в гомогенаті печінки, а тому було визначено динаміку цього показника при застосуванні селективного і неселективного блокаторів синтезу монооксиду азоту.

При аналізі зміни маркерного показника цитолізу та холестази в гомогенаті печінки під впливом N-нітро-L-аргініну (табл. 3) встановлено, що рівень активності ЛФ значно перевищував показник контролю, проте достовірно не відрізнявся від показника групи тварин, яким не проводили корекції.

У свою чергу, введення селективного інгібітора iNOS – 1400W призвело до зниження актив-

Таблиця 2 – Показники системи монооксиду азоту при політравмі після корекції 1400W ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показник	Група тварин						
	контроль	2-га			4-та		
		1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба
NOS, нмоль/мг білкахв (печінка)	19,20±0,22	30,78±0,96 $p<0,001$	25,42±0,29 $p<0,001$	21,12±1,90 $p<0,001$	25,32±1,10 $p_1<0,002$	23,11±0,36 $p_1<0,001$	20,43±0,63 $p_1>0,05$
$NO_x$ , ммоль/л (кров)	6,32±0,48	14,07±0,17 $p<0,001$	13,25±0,08 $p<0,001$	11,50±0,14 $p<0,001$	8,25±0,39 $p_1<0,001$	10,91±0,36 $p_1<0,001$	9,22±0,4 $p_1<0,001$
$NO_x$ , ммоль/кг (печінка)	2,61±0,16	4,85±0,14 $p<0,001$	4,05±0,08 $p<0,001$	3,95±0,12 $p<0,001$	3,28±0,19 $p_1<0,001$	3,10±0,18 $p_1<0,001$	3,05±0,21 $p_1<0,002$

Таблиця 3 – Динаміка вмісту лужної фосфатази в гомогенаті печінки щурів при політравмі після корекції L-NAME ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показник	Група тварин						
	контроль	2-га			3-тя		
		1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба
ЛФ, нмоль/(кгхс)	0,91±0,04	1,64±0,06 $p<0,001$	1,79±0,03 $p<0,001$	1,82±0,04 $p<0,001$	1,79±0,15 $p_1>0,05$	1,91±0,14 $p_1>0,05$	1,98±0,13 $p_1>0,05$

ності лужної фосфатази порівняно з тваринами, яким не проводили медикаментозної корекції травматичної хвороби. Так, у 4-й групі активність ЛФ на 1-шу добу експерименту була нижчою на 38,4 %, на 3-тю – на 27,9 %, а на 7-му – на 25,8 % достовірно меншою, ніж у 2-й групі (табл. 4).

Класичними маркерами цитолізу гепатоцитів є ферменти аланін- і аспартатамінотрансферази. З метою оцінки ступеня тяжкості некрозу печінки визначали активність АлАТ і АсАТ у сироватці крові на фоні корекції блокаторами синтезу монооксиду азоту.

Введення тваринам неселективного інгібітора синтезу монооксиду азоту підвищило активність АлАТ та АсАТ у сироватці крові вже на 1-шу добу в 1,4 раза.

Введення щурам 3-ї групи L-NAME до 3-ї доби експерименту викликало підвищення активності АлАТ в 1,6 раза, АсАТ – в 1,8 раза. На 7-му добу продовжувала зростати активність трансаміназ, зокрема АлАТ – на 29,1 %, а АсАТ – на 59,5 % відносно тварин 1-ї групи (табл. 5).

Водночас застосування селективного блокатора iNOS – 1400W у тварин 4-ї групи вже на 1-шу добу введення призвело до зниження активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові щурів. Зокрема, рівень АлАТ достовірно зменшився на 26,3 %, а АсАТ – на 46,8 %. На 3-тю і 7-му доби активність трансаміназ достовірно не відрізнялась від відповідних показників групи тварин, яким не проводили корекції (табл. 6).

Активність органоспецифічного ферменту печінки – гаммаглутамілтранспептидази у крові тварин 3-ї групи при проведенні неселективного блокування синтезу монооксиду азоту суттєво не відрізнялась від відповідного показника щурів 2-ї групи. Зокрема, на 1-шу і 7-му доби ця різниця була недостовірною, а на 3-тю добу активність ГГТП у тварин 3-ї групи зросла на 17,4 % (табл. 7).

На відміну від попередніх результатів, при застосуванні селективного блокатора синтезу монооксиду азоту активність ГГТП у крові тварин 4-ї групи достовірно відрізнялась від відповідного показника щурів 2-ї групи (табл. 8). Зокрема,

Таблиця 4 – Динаміка вмісту лужної фосфатази в гомогенаті печінки щурів при політравмі після корекції 1400W ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показник	Група тварин						
	контроль	2-га			4-га		
		1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба
ЛФ, нмоль/(кг×с)	0,91±0,04	1,64±0,06 $p < 0,001$	1,79±0,03 $p < 0,001$	1,82±0,04 $p < 0,001$	1,01±0,03 $p_1 < 0,001$	1,29±0,03 $p_1 < 0,001$	1,35±0,04 $p_1 < 0,001$

Таблиця 5 – Активність аланін- і аспартатамінотрансфераз у сироватці крові щурів при політравмі після корекції L-NAME ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показник	Групи тварин						
	контроль	2-га			3-тя		
		1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба
АлАТ, ммоль/(л×год)	0,30±0,01	0,57±0,01 $p < 0,02$	0,72±0,06 $p < 0,001$	0,86±0,03 $p < 0,001$	0,80±0,09 $p_1 < 0,05$	1,14±0,09 $p_1 < 0,002$	1,11±0,08 $p_1 < 0,01$
АсАТ, ммоль/(л×год)	0,42±0,03	0,94±0,12 $p < 0,001$	1,06±0,10 $p < 0,001$	1,11±0,14 $p < 0,001$	1,32±0,09 $p_1 < 0,05$	1,90±0,09 $p_1 < 0,001$	1,77±0,11 $p_1 < 0,002$

Таблиця 6 – Активність аланін- і аспартатамінотрансфераз у сироватці крові щурів при політравмі після корекції 1400W ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показник	Група тварин						
	контроль	2-га			4-га		
		1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба
АлАТ, ммоль/(л×год)	0,30±0,01	0,57±0,01 $p < 0,001$	0,72±0,06 $p < 0,001$	0,86±0,03 $p < 0,001$	0,42±0,04 $p_1 < 0,002$	0,60±0,09 $p_1 > 0,05$	0,76±0,06 $p_1 > 0,05$
АсАТ, ммоль/(л×год)	0,42±0,03	0,94±0,12 $p_1 < 0,001$	1,06±0,10 $p_1 < 0,001$	1,11±0,14 $p_1 < 0,001$	0,50±0,03 $p_1 < 0,05$	0,82±0,13 $p_1 > 0,05$	0,88±0,11 $p_1 > 0,05$

Таблиця 7 – Динаміка вмісту гаммаглутамілтранспептидази в сироватці крові щурів при політравмі після корекції L-NAME ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показник	Група тварин						
	контроль	2-га			3-тя		
		1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба
ГГТП, ккат/л	0,87±0,07	2,16±0,10 $p < 0,001$	2,70±0,12 $p < 0,001$	2,53±0,17 $p < 0,001$	2,38±0,15 $p_1 > 0,05$	3,17±0,15 $p_1 < 0,05$	2,87±0,15 $p_1 > 0,05$



Таблиця 8 – Динаміка вмісту гаммаглутамілтранспептидази в сироватці крові щурів при політравмі після корекції 1400W ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показник	Група тварин						
	контроль	2-га			4-та		
		1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба
ГГТП, мккат/л	0,87±0,07	2,16±0,10 $p < 0,001$	2,70±0,12 $p < 0,001$	2,53±0,17 $p < 0,001$	1,54±0,12 $p_1 < 0,001$	1,82±0,11 $p_1 < 0,001$	1,68±0,11 $p_1 < 0,001$

на 1-шу добу експерименту активність цього ферменту у тварин 4-ї групи після ведення 1400W знизилась на 28,7 %, а на 3-тю і 7-му доби була, відповідно, на 32,6 та 33,6 % меншою, ніж у щурів 2-ї групи в ці ж терміни спостереження.

Отже, селективне інгібування синтезу монооксиду азоту ефективно знижує активність ГГТП і, таким чином, зменшує рівень гепатоцитолізу.

Під час дослідження функції печінки при експериментальній множинній травмі встановлено, що в міру прогресування травматичної хвороби та при застосуванні неселективного інгібітора монооксиду азоту зростала активність аланін- і аспартатамінотрансфераз, лужної фосфатази і гаммаглутамілтранспептидази, що є ознакою гепатоцитолізу. Але при використанні селективного інгібітора iNOS – 1400W відповідні показники були достовірно нижчими, що свідчить про важливу роль системи монооксиду азоту в розвитку ускладнень при політравмі з боку печінки і доводить доцільність його застосування з метою попередження прогресування цитолітичного синдрому.

Отримані результати щодо попередження ускладнень з боку печінки при політравмі можна вважати наслідком гепатопротекторного впливу селективного інгібітора монооксиду азоту. Одним із механізмів такого впливу може бути селективне інгібування індукцибельної синтази монооксиду азоту і, відповідно, зниження надмірної концентрації його метаболітів.

Неселективне блокування активності NOS, що призводить до внутрішньоклітинного дефіциту NO, є однією з головних причин незавершеності фагоцитозу, що клінічно проявляється хронічним перебігом запального процесу [12].

Застосування селективного інгібітора iNOS – 1400W не викликає різкого пригнічення синтезу монооксиду азоту при політравмі, оскільки підвищення синтезу NO в розвитку запалення має позитивне значення для організму в тому відношенні, що він бере участь у регуляції активності запалення та регенерації тканини [13].

Підвищення утворення нітратів і нітритів при політравмі можна розглядати як адаптивну відповідь на травму та гостре запалення, оскільки монооксид азоту сприяє підвищенню тканинної перфузії і нейтралізує активні форми кисню. На важливість ролі монооксиду азоту в адаптаційних процесах при політравмі вказує той факт, що блокування його утворення неселективним інгібітором синтезу монооксиду азоту призводить до значного погіршення функціональних показників печінки. І навпаки, застосування селективного інгібітора синтезу оксиду азоту сприяє покращенню функції печінки за умов експериментальної політравми.

**ВИСНОВОК.** Отримані результати експериментальних досліджень дають підставу стверджувати, що спрямоване підвищення активності системи монооксиду азоту може бути перспективним засобом профілактики печінкової дисфункції при політравмі.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Казаков В. М. Шляхи взаємодії нервової, ендокринної та імунної систем в регуляції функцій організму / В. М. Казаков, М. А. Снігур, А. Г. Снігур // Арх. клініч. та експерим. медицини. – 2004. – **13**, № 1. – С. 3–10.
2. Мартюшев-Поклад А. В. Стрес-лімітуючі системи та нейрональна пластичність у патогенезі психічних і неврологічних розладів / А. В. Мартюшев-Поклад, Т. А. Вороніна // Огляди по клініч. фармакології і лікув. терапії. – 2003. – **2**, № 4. – С. 15–25.

3. Калинин О. Г. Травматическая болезнь / О. Г. Калинин // Травма. – 2013. – **14**, № 3. – С. 59–65.
4. Differential regulation of spontaneous and immune complex-induced neutrophil apoptosis by proinflammatory cytokines. Role of oxidants, Bax and caspase-3 / L. Ottonello, G. Frumento, N. Arduino [et al.] //

J. of Leukocyte Biology vol. – 2002. – 72, No. 1. – P. 125–132.

5. Волошин Л. В. Ендотеліальна дисфункція при цереброваскулярній патології / Л. В. Волошин, В. А. Малахов, А. М. Завгородня. – Харків, 2006. – 92 с.

6. Сомова Л. М. Оксид азоту як медіатор запалення / Л. М. Сомова, Н. Г. Плехова // Вісн. ДВО АН. – 2006. – № 6. – С. 7–80.

7. Bredt D. S. Nitric oxide signaling in brain: Potentiating the gain with YC-1 / D. S. Bredt // *Mol. Pharmacol.* – 2003. – 63, No. 6. – P. 1206–1208.

8. Förstermann U. Endothelial NO synthase as a source of NO and superoxide / U. Förstermann // *European Journal of Clinical Pharmacology.* – 2006. – 62, No. 1. – P. 5–12.

9. Ельський В. Н. Изменения в системе оксида азота при травматической болезни / В. Н. Ельський,

С. В. Зяблицев, М. С. Кишеня // *Патологія.* – 2007. – 4, № 3. – С. 19–22.

10. Мерецький В. М. Роль системи оксиду азоту в патогенезі черепно-мозкової травми, поєднаної з цукровим діабетом / В. М. Мерецький // *Мир медицини і біології.* – 2013. – № 3 (40). – С. 11–13.

11. Олещук О. М. Блокатори синтезу оксиду азоту при ішемії-реперфузії печінки / О. М. Олещук // *Здобутки клініч. і експерим. медицини.* – 2010. – № 2 (13). – С. 70–72.

12. Экзогенные доноры оксида азота и ингибиторы NO-синтаз (химический аспект) / А. П. Арзамасцев, И. С. Северина, Н. Б. Григорьев [и др.] // *Вестн. РАМН.* – 2003. – № 12. – С. 88–94.

13. Демьянов А. В. Диагностическая ценность уровней цитокинов в клинической иммунологии / А. В. Демьянов, А. Ю. Котов, А. С. Симбирцев // *Цитокины и воспаление.* – 2003. – 2, № 3. – С. 20–27.

#### REFERENCES

1. Kazakov, V.M., Snihur, M.A., & Snihur, A.H. (2004). Shliakhy vzaiemodii nervovoi, endokrynnoi ta imunnoi system v rehuliacii funktsii orhanizmu [Ways of interaction of the nervous, endocrine and immune systems in the regulation of the organism functions]. *Arkh. klinich. ta eksperym. med. – Archive of Clinical and Experimental Medicine*, 13 (1), 3-10 [in Ukrainian].

2. Martiushev-Poklad, A.V., & Voronina, T.A. (2003). Stres-limituichi systemy ta neironalna plastychnist u patohenezi psyhichnykh i nevrolohichnykh rozladiv [Stress-limiting systems and neuronal plasticity in the pathogenesis of mental and neurological disorders]. *Ohliady po klinich. farmakologii i likuv. Terapii – Reviews on Clinical Pharmacology and Therapeutic Therapy*, 2 (4), 15-25 [in Ukrainian].

3. Kalinkin, O.G. (2013). Travmaticheskaya bolezn [Traumatic disease]. *Travma – Injury*, 14 (3), 59-65 [in Russian].

4. Ottonello, L., Frumento, G., & Arduino, N. (2002). Differential regulation of spontaneous and immune complex-induced neutrophil apoptosis by proinflammatory cytokines. Role of oxidants, Bax and caspase-3. *J. of Leukocyte Biology*, 72 (1), 125-132.

5. Voloshyn, L.V., Malakhov, V.A., & Zavorodnia, A.M. (2006). Endotelialna dysfunktsiia pry tserebrovaskuliarnii patologii [Endothelial dysfunction in cerebrovascular pathology]. *Kharkiv* [in Ukrainian].

6. Somova, L.M., & Plekhova, N.H. (2006). Oksyd azotu yak mediator zapalennia [Nitric oxide as a mediator of inflammation]. *Visnyk DVO AN – Herald of the Academy of Sciences*, 6, 7-80 [in Ukrainian].

7. Bredt, D.S. (2003). Nitric oxide signaling in brain: Potentiating the gain with YC-1. *Mol. Pharmacol.*, 63 (6), 1206-1208.

8. Förstermann, U. (2006). Endothelial NO synthase as a source of NO and superoxide. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 62 (1), 5-12.

9. Yelskiy, V.N., Zyablitsev, S.V., & Kishenya, M.S. (2007). Izmeneniya v sisteme oksida azota pri travmaticheskoy boleznii [Changes in the system of nitric oxide in traumatic disease]. *Patologiya – Pathology*, 4 (3), 19-22 [in Russian].

10. Meretskiy, V.M. (2013). Rol systemy oksydu azotu v patohenezi cherepno-mozkovoï travmy, poiednanoi z tsukrovym diabetom [Role of nitric oxide system in the pathogenesis of craniocerebral trauma associated with diabetes mellitus]. *Mir meditsiny i biologii – The World of Medicine and Biology*, 3 (40), 11-13 [in Ukrainian].

11. Oleshchuk, O.M. (2010). Blokatory syntezu oksydu azotu pry ishemii-reperfuzii pechinky [Blockers of nitric oxide synthesis in liver ischemia-reperfusion]. *Zdobutky klinich. i eksperym. medytsyny – Achievements of Clinical and Experimental Medicine*, 2 (13), 70-72 [in Ukrainian].

12. Arzamastsev, A.P., Severina, I.S., & Grigoryev, N.B. (2003). Ekzogennyye donory oksida azota i inhibitory NO-sintaz (khimicheskyy aspekt) [Exogenous nitric oxide donors and NO synthase inhibitors (chemical aspect)]. *Vestnik RAMN – Herald of the Russian Academy of Medical Sciences*, 12, 88-94 [in Russian].

13. Demyanov, A.V., Kotov, A.Yu., & Simbirtsev, A.S. (2003). Diagnosticheskaya tsennost urovney tsitokinov v klinicheskoy immunologii [Diagnostic value of cytokine levels in clinical immunology]. *Tsitokiny i vospalenie – Cytokines and Inflammation*, 2 (3), 20-27 [in Russian].

## РОЛЬ СИСТЕМЫ МОНООКСИДА АЗОТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОЛИТРАВМЕ

### Резюме

**Вступление.** Монооксид азота (NO) – один из важнейших медиаторов внутриклеточного и межклеточного взаимодействия в нейроиммуноэндокринной системе. Кроме вазодилатирующих, нейротрансмиттерных и стресслимитирующих свойств, несомненным является участие NO в формировании нитрооксидативного стресса, глутамат-кальциевого каскада и воспаления. Реактивные азотные структуры, по данным многих ученых, участвуют в патогенезе повреждений тканей, вызванных травмами.

**Цель исследования** – определить роль системы монооксида азота в патогенезе поражения печени при политравме на основе изучения динамики общей NOS и конечных метаболитов монооксида азота при использовании селективного и неселективного ингибиторов NOS.

**Методы исследования.** Исследования выполнены на лабораторных беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г. Для выяснения роли NO в патогенезе поражения печени при политравме применены неселективный ингибитор NOS – L-NAME и селективный ингибитор iNOS – 1400W. Было исследовано активность NOS и содержание стабильных конечных метаболитов оксида азота в гомогенатах печени и сыворотке крови подопытных животных на 1-е, 3-е, 7-е сутки моделирования политравмы. Активность ферментов аланин- и аспаратаминотрансфераз, щелочной фосфатазы, гаммаглутамилтранспептидазы определяли, используя стандартные наборы реактивов. Для установления состояния системы монооксида азота колориметрически по количеству образованных нитратов и нитритов в инкубационной среде определяли суммарную активность синтазы монооксида азота – NOS. Общее содержание нитратов и нитритов в печени и крови определяли по методу Гриса.

**Результаты и обсуждение.** В процессе развития экспериментальной травматической болезни наблюдали повышенную активность индуцибельной формы NOS и избыточное продуцирование монооксида азота в печени и крови крыс. Применение неселективного ингибитора NOS – L-NAME и селективного ингибитора iNOS – 1400W доказало непосредственную роль монооксида азота в патогенезе развития осложнений со стороны печени вследствие политравмы.

**Вывод.** Полученные результаты экспериментальных исследований дают основание утверждать, что направленное повышение активности системы монооксида азота может быть перспективным средством профилактики печеночной дисфункции при политравме.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: политравма; печень; NO-синтаза; монооксид азота.

O. O. Kulianda

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

## THE ROLE OF NITRIC MONOXIDE SYSTEM IN PATHOGENESIS OF LIVER LESION IN EXPERIMENTAL POLYTRAUMA

### Summary

**Introduction.** Nitric monoxide (NO) is one of the most important mediators of intracellular and intercellular interaction in the neuroimmunoendocrine system. In addition to vasodilating, neurotransmitting and stress-limiting potentials, NO's participation in the formation of nitrooxidative stress, glutamate-calcium cascade and inflammation is undoubtedly involved. Reactive nitrogen structures, according to many scientists, are involved in the pathogenesis of injuries to tissues caused by trauma.

**The aim of the study** – to determine the role of the system of nitrogen monoxide in the pathogenesis of liver damage in polytrauma based on the study of the dynamics of total NOS and end metabolites of nitric oxide under the conditions of selective and nonselective NOS inhibitors usage.

**Research Methods.** The study was carried out on laboratory white male rats with a body weight of 180–200 g. To determine the role of NO in the pathogenesis of liver injury in polytrauma, we applied a non-selective inhibitor NOS-L-NAME and a selective inhibitor of iNOS-1400W. We investigated the activity of NOS and the content of stable end metabolites of nitric oxide in liver and serum homogenates of experimental animals at 1, 3, 7 days of

*polytrauma simulation. Determination of the activity of enzymes AIAT, AsAT, LF, GGTP was carried out using standard sets of reagents. In order to determine the condition of the system of nitrogen monoxide, the total activity of the nitrous oxide monosodium nitrogen (NOS) was determined by the number of formed nitrates and nitrites in the incubation medium colorimetrically. The total content of nitrates and nitrites in the liver and blood was determined by the Gris method.*

**Results and Discussion.** *It is shown that in the course of the development of an experimental trauma disease there is an increased activity of the inducible form of NOS and excessive production of nitrogen monoxide in the liver and blood of rats. The use of a nonselective inhibitor of NOS – L-NAME and a selective inhibitor of iNOS – 1400W proved the direct role of nitrogen monoxide in the pathogenesis of the development of complications from the liver due to polytrauma.*

**Conclusion.** *The obtained results of experimental studies give grounds to assert that the directed increase of the activity of the system of mono oxide of nitrogen can be a perspective way to prevent hepatic dysfunction in polytrauma.*

KEY WORDS: **polytrauma; liver; NO-synthase; nitric oxide.**

Отримано 19.04.18

Адреса для листування: О. О. Кулянда, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: kulyanda\_olol@tdmu.edu.ua.