

УДК 616.24-002-007.6-056.3.612

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo10418151>

**ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КОРВІТИНУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ
ЩОДО ДИНАМІКИ ВІДХИЛЕНЬ ПАРАМЕТРІВ СИСТЕМИ
ОКСИДУ АЗОТУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АЛЕРГІЧНОМУ
АЛЬВЕОЛІТІ В УМОВАХ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ**

Регада М. С., Галій-Луцька В. В.

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
Львівський медичний університет, м. Львів, Україна, lvivmedinst@gmail.com*

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРВИТИНА И
ТИОТРИАЗОЛИНА ПО ДИНАМИКЕ ОТКЛОНЕНИЙ ПАРАМЕТРОВ
СИСТЕМЫ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
АЛЕРГИЧЕСКОМ АЛЬВЕОЛИТЕ В УСЛОВИЯХ
ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА**

Регада М. С., Галій-Луцька В. В.

*Львовский национальный медицинский университет имени Даниила
Галицкого*

Львовский медицинский университет, г. Львов, Украина,

**EFFECTIVENESS OF CORVITIN AND THIOTRIAZOLINE
REGARDING THE DYNAMICS OF DEVIATIONS IN THE
PARAMETERS OF THE NITROGEN OXIDE SYSTEM IN
EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS UNDER CONDITIONS OF
IMMOBILIZATION STRESS**

Regeda M. S., Galii-Lutska V. V.

*Danylo Halytsky Lviv National Medical University
Lviv Medical University, lvivmedinst@gmail.com*

Резюме/Summary

Resume. The purpose of the study is to evaluate the nature of changes in the content of L-arginine, stable metabolites of NO and the total activity of nitric oxide synthase (NOS) in the lung tissue of male guinea pigs (MS) in EAA and IS, to determine the effect of the combined use of corvitin and thiotriazoline on deviations of the above parameters.

The research results showed that under the conditions of isolated EAA and IS and under the conditions of their combination, there was an increase in the activity of NOS synthase, stable metabolites of NO against the background of a decrease in the content of L-arginine compared to the control, which indicates a violation of the indicators of the nitric oxide system and their involvement in pathogenesis development of EAA and IS. These indicators were more pronounced with combined pathology than separately against control values. The correcting effect of corvitin and thiotriazoline on the disturbed indicators of nitric oxide in EAA and IS has been proven.

Key words: *allergic alveolitis, immobilization stress, total NOS, stable metabolites of NO, L-arginine, corvitine, thiotriazoline*

Мета дослідження — оцінити характер змін вмісту L-аргініну, стабільних метаболітів NO та сумарної активності синтаз оксиду азоту (NOS) легеневої тканини самців морських свинок (МС) при EAA та IC, визначити вплив поєднаного застосування корвітину та тіотриазоліну щодо відхилень вищевказаних показників.

Результати досліджень показали, що за умов ізольованих EAA і IC так і в умовах їх поєднання зростання активності NOS синтази, стабільних метаболітів NO на тлі зниження вмісту L-аргініну в порівнянні з контролем, що вказує на порушення показників системи оксиду азоту та їх участь в патогенезі розвитку EAA та IC. Ці показники були більше виражені при поєднаній патології ніж окремо проти контрольних величин. Доведений коригуючий вплив корвітину та тіотриазоліну на порушені показники оксиду азоту при EAA і IC.

Ключові слова: алергічний альвеоліт, іммобілізаційний стрес, сумарна NOS, стабільні метаболіти NO, L-аргінін, корвітин, тіотриазолін

Цель исследования — оценить характер изменений содержания L-аргинина, стабильных метаболитов NO и суммарной активности синтаз оксида азота (NOS) легочной ткани самцов морских свинок (МС) при ЭАА и ИС, определить влияние сочетанного применения корвитина и тиотриазолина в отношении отклонений вышеуказанных показателей.

Результаты исследований показали, что при изолированных ЭАА и ИС так и в условиях их сочетания рост активности NOS синтазы, стабильных метаболитов NO на фоне снижения содержания L-аргинина по сравнению с контролем, что указывает на нарушение показателей системы оксида азота и их участие в патогенезе развития ЭАА и ИС. Эти показатели были более выражены при сочетанной патологии, чем отдельно против контрольных величин. Доказано корректирующее влияние корвитина и тиотриазолина на нарушенные показатели оксида азота при ЭАА и ИС.

Ключевые слова: аллергический альвеолит, иммобилизационный стресс, суммарная NOS, стабильные метаболиты NO, L-аргинин, корвитин, тиотриазолин

Вступ

За умов формування алергічно-запальних процесів, під дією IL-1 α , TNF- α , IFN- γ , бактерійного ліпополісахариду, гіпоксії, оксидантного стресу [1] у моноцитах, макрофагах, нейтрофілах, клітинах Купфера, фібробластах, хондроцитах, синовіцитах, ендотеліоцитах, епітеліальних клітинах кишечника, альвеоцитах, а також у нейронах, мікроглії та астроцитах при ішемічному, травматичному, нейротоксичному та запальному пошкодженні структур центральної нервової системи [1–3] відбувається гіперполяризація клітинних мембран та надходження L-аргініну з позаклітинного середовища в клітину. Спостерігається посилення експресії генів iNOS, необхідного для продукції оксиду азоту з L-аргініну, що

відіграє роль у подальшій стимуляції запуску MAPK-каскаду та NF- κ B[4]. Вищевказані прозапальні цитокіни та оксидантний стрес провокують зростання активності NF- κ B, його транслокацію в ядро та зв'язування з послідовністю промотора, тоді як трансформуючий фактор росту- α 1 (TGF- α 1) і антиоксиданти послаблюють активність NF- κ B через включення убіквітин-залежної протеасомної деградації, таким чином протидіючи його транслокації до ядра та посилюючи експресію генів I- κ B [1]. Поряд з цим, NF- κ B є важливим індуктором експресії генів прозапальних цитокінів IL-1, IL-6 [5] та адгезивних молекул ендотеліоцитів ICAM-1, VCAM-1 [6], що є ключовими чинниками індукції запалення та розвитку необоротної адгезії лейкоцитів відпо-

відно.

Наразі відомо, що виробництво NO каталізується трьома ізоформами синтаз оксиду азоту (NOS): eNOS (ендотеліальний NOS або NOS1), iNOS (індукований NOS або NOS2) і nNOS (нейрональний NOS або NOS3), гени яких локалізуються у 12,17 та 7 хромосомах відповідно [7–10, 36]. iNOS — гомодимер, молекулярною масою 130–135 кДа, що складається з двох доменів: перший являє собою редуктазну карбокси-кінцеву частину, зв'язану з нікотинаміддинуклеотидфосфатом, флавінмононуклеотидом, флавінаденіндинуклеотидом; другий — кисневий, аміно-кінцевий, зв'язаний з протопорфірином IX, тетрагідробіоптерином та L-аргінін [1,8,11]. Кальмодулін нековалентно зв'язаний з iNOS в ділянці з'єднання редуктазного та оксигеназного доменів. Під час синтезу оксиду азоту L-аргінін спочатку гідроксильється, а вже в наступній стадії продукується L-цитрулін, вода і оксиду азоту [8, 12, 13]. Для реакції є необхідним перенесення електронів від нікотинаміддинуклеотидфосфату через флавінмононуклеотидфосфат та флавінаденіндинуклеотидфосфат редуктазного домену на гем типу цитохрому P-450 оксигеназного домену при зв'язуванні ферментом кальмодуліну. Надалі гем приєднує кисень з утворенням супероксигему двовалентного заліза. Через розташування тетрагідробіоптерину поблизу гему в оксигеназному домені, переміщення з нього електронів на залізо гему в межах домену відбувається значно швидше, ніж їх міждоменний транспорт, та є невід'ємною частиною вищевказаних біохімічних перетворень L-аргініну у зв'язку з необхідністю відновлення заліза гему оксигеназного домену [13, 14].

Ферментативна активність iNOS визначається рівнем споживання L-аргініну, транспорту в клітини, його використанням аргіназою, що конкурує з NOS за використання L-аргініну як субстрату [15, 36]. Зазначений фермент, що експресується в альвеоцитах, ендотеліоцитах

легеневих капілярів, макрофагах та фібробластах, каталізує перетворення L-аргінін на сечовину і L-орнітин, який стає джерелом утворення L-проліну, необхідного для синтезу колагену, та поліамінів, які індукують проліферацію та диференціювання клітин, в тому числі — в ділянці запалення, сприяючи ремоделюванню легеневої тканини [16]. Висока активність аргіназ зумовлює роз'єднання NOS, продукцію супероксид-аніону та розвиток оксидантного і нітрозивного стресу [17]. Окрім цього, нестача тетрагідробіоптерину може спричинити перенесення електронів з простетичного гему оксигеназного домену на кисень з подальшою появою активних форм кисню, формуванням оксидантного і нітрозивного стресу. Джерелами O_2 — може стати ланцюг транспортування електронів мітохондрій, пероксисоми, реакції за участі NAD (P)H-оксидаз, ксантиноксидаз, цитохрому P-450 і циклооксигеназ [8]'. Таким чином, поряд з синтезом NO, в умовах запалення підвищується вироблення активних форм кисню, таких як супероксид-аніон та перекис водню, за участі НАДФН-оксидази та мітохондріального електронно-транспортного ланцюга [18], що являється пусковим механізмом появи активних форм оксиду азоту, таких як пероксинітрит, синтез якого за швидкістю втричі перевищує дисмутацію супероксид-аніону супероксиддисмутазою [8], пероксинітриста кислота, пероксинітрат, пероксиазотна кислота, діоксид азоту, динітроген триоксид, нітроксильний аніон, катіон нітрозонію, нітриту, нітрату [12], які у високих концентраціях викликають ушкодження клітинних ліпідів, білків та нуклеїнових кислот шляхом окиснення, нітрування та нітрузування, модифікації азотистих основ, зокрема, — їх окиснення з появою нітрогуаніну та формуванням одноланцюгових розривів ДНК, що є чинником стимулювання апоптозу [4,7], при чому найбільш вираженого пошкодження зазнають структурні компоненти нуклеїнових кислот, мітохондрій та ендоплазматично-

го ретикулуму [17]. Особливо вразливи є мітохондріальна ДНК, білкові молекули електронного транспортного ланцюга та дегідрогенази циклу трикарбонових кислот через відсутність у мітохондріях гістонів, поліамінів та каталази, що присутні у клітинному ядрі. Власне взаємодія O_2 і NO призводить до синтезу пероксинітриду ($OONO^\cdot$), який у реакції з вуглекислим газом (CO_2) перетворюється на нітрозопероксокарбоксилат ($ONOOOCO_2$) або пероксинітристу кислоту ($ONOOH$), що спричиняє окиснення ліпідів, азотистих основ, залишків метіоніну та тирозину з подальшим утворенням 3-нітротирозину та катехоламінів [8,14]. Також вищевказані активні форми оксиду азоту викликають продукцію 8-нітрогуазинтрифосфату, стійкого до впливу фосфодіестераз, що активує цГМФ-залежну протеїнкіназу та є фактором стійкої вазодилатації [18].

Оксид азоту є ефектором нейтрофілів та макрофагів, індуктором цитолітичної дії NK-клітин, регулятором Т-хелперно-супресорного співвідношення, міграції та рециркуляції Т-лімфоцитів. Вироблення NO за допомогою iNOS, що є кальцій-кальмодуліннезалежним процесом, триває щонайменше до 5 днів, а період його підрозпаду, залежно від концентрації, яка, як правило, є дуже високою (від нано- до мікромолів), — від кількох секунд до хвилин [19]. Дія оксиду азоту переважно проявляється в місці його синтезу, — локально, через малий період напіввиведення (1-10 с) та дифузійну відстань (50-1000 мкм) [20]. NO, як і активні його форми, взаємодіючи з SH-групами цистеїну білкових молекул, викликає утворення S-нітрозотіолів, дисульфідних зв'язків та зростання протеолітичної стійкості; бере участь у нітруванні тирозину; утворенні нітроліпідів; дезамінуванні нуклеїнових кислот з подальшою індукцією мутацій; взаємодії з Fe^{2+} (в гемових групах або залізо-сірчаних кластерах) та Zn^{2+} (у цинково-сірчаних кластерах), опосередковано впливаючи на активність білків, ферментів і факторів

транскрипції [17]. Так, нітрування тирозину та триптофану актину зумовлює порушення його полімеризації та, як наслідок, — міорелаксацію та вазодилатацію [10]. Загалом S-нітрозилування — це посттрансляційна модифікація, що відбувається за рахунок ковалентного додавання нітрозонію, еквівалентного атому сірки цистеїну, при чому синтез нітрозотіолу може спричинятись окисненням NO до N_2O_3 за наявності акцептора електронів або через радикальну рекомбінацію тіолового радикалу і NO, поряд з чим можуть включатись шляхи динітрозилзалізо або гем-NO [21]. Поява нітрозотіолу в активному центрі білків викликає зниження їх активності. Повідомляється, що NO може індукувати S-нітрозилування гіпоксійного індукованого фактора 16 (HIF-16), ядерного фактора κB (NF κB), матриксних металопротеїназ або каспаз, відповідно призводячи до смерті або виживання, залежно від клітинної системи та умов мікросередовища [22]. S-нітрозилування білків нейронів гіпоталамуса впливає на сприйняття глюкози, метаболізм глутамату, зокрема, — пригнічує його транспорт [11]. Також сучасними дослідженнями доведено участь оксиду азоту у ремоделюванні легеневої тканини через взаємодію з металопротеїназами (MMP-9, MMP-12) та TGF- β [23].

eNOS є димером з двох мономерів по 134 кДа, що кодується геном ділянки 7q35-7q36. Зазначена ізоформа, що визначається у ендотеліоцитах, епітеліоцитах, Т-лімфоцитах, еритроцитах, тромбоцитах, кардіоміоцитах та деяких нейронах [10,17, 36], здійснює свій ефект шляхом стимуляції гуанілатциклази та синтезу цГМФ, який активує протеїнкіназу G [24], що призводить до захоплення кальцію з цитоплазми в саркоплазматичний ретикулум, його виведення з клітини та відкриття калієвих каналів [7], що зумовлює розслаблення гладеньких м'язів, вазодилатацію переважно дрібних артерій, зниження адгезії лейкоцитів під час запалення, адгезії та агрегації тромбоцитів,

зростання експресії генів супероксид-дисмутази.

nNOS, молекулярною масою 160,8 кДа [11], що складається з 1434 амінокислотних залишків [25], синтезується у відповідь на взаємодію глутамату з NMDA-рецепторами [11], рідше — під дією ГАМК у нейронах, стовбурових клітинах нервової системи та астроцитах, а також у гладком'язевих клітинах, кардіоміоцитах та ендотеліоцитах, беручи участь у нейротрансмісії, проведенні больової імпульсації, сенсibiliзації нейронів, модулюванні збудливості нейронів, руху синаптичних везикул, регуляції синаптичної пластичності, пам'яті та навчання [7,17, 19, 26, 27], репродукції, енергетичного гомеостазу, апетиту та рухової активності [11], вивільнення ацетилхоліну, гістаміну, серотоніну, глутамату та ГАМК [7], забезпеченні вазодилатації судин скелетних м'язів та серця [9]. Виділення nNOS викликають естрогени, ангіотензин II, тромбоцитарний фактор росту та гіпоксія [7], внаслідок чого можна припустити про збільшення активності даної ізоформи при легеневої патології, зокрема, запального походження. Також було виявлено підвищення експресії генів nNOS під час тривоги, стресу, зокрема, зумовленого впливом хижаків та гострим стресом обмеження у нейронах вентромедіальної преіrontальної кори [28]. На даний час відомо про 2 типи nNOS: 1 продукується у нейронах глибоких шарів неокортексу, що містять на клітинній мембрані рецептори до субстанції Р, тоді як 2 — у численних інтернейронах як глибоких, так і поверхневих шарів, при чому 2 тип зумовлює утворення меншої кількості оксиду азоту ніж 1 [29]. nNOS експресується у глутаматергічних нейронах гіпоталамуса та структур, що обробляють сенсорну інформацію — нюхової цибулини, нижніх горбків таламуса; дещо менше — у ГАМК-ергічних нейронах неокортексу та гіпокампа; зубчастої звивини, смугастого тіла, мозочка, міжніжкового ядра. Однак, у нейронах таламуса, гіпоталамуса, гіпокампа та

мигдалеподібного ядра відбувається і експресія iNOS [11], що може мати значення у патогенезі стресу.

Активність конститутивних ізоформ — eNOS та nNOS, визначається формуванням кальцій-кальмодулінових комплексів після попереднього зростання концентрації кальцію в цитоплазмі внаслідок відкриття потенціал-залежних кальцієвих каналів клітинних мембран з надходженням даного іона всередину клітини та виходом в цитоплазму з внутрішньоклітинних депо [11,17]. Ацетилхолін, брадикінін і гістамін, які надмірно утворюються в зоні запалення, впливаючи на специфічні рецептори мембран ендотеліоцитів, підвищують внутрішньоклітинну концентрацію Ca^{2+} , який зв'язується з кальмодуліном, стимулює кальмодулін-зв'язуючий домен eNOS, що посилює переміщення електронів від редуктазного до оксигеназного доменів NOS, запускаючи синтез NO [7,14]. Повідомляється про здатність високих концентрацій оксиду азоту, отриманого з даних ізоформ NOS, продукованих у нейронах паравентрикулярних ядер гіпоталамуса та ростральної вентро-латеральної ділянки стовбура мозку, пригнічувати активність симпатичних нервів [30], що може вказувати на вагомий роль зрушень з боку параметрів системи оксиду азоту в умовах стресу.

В нашому дослідженні, враховуючи особливості алергічного альвеоліту як захворювання алергічно-запального генезу, та іммобілізаційного стресу, який супроводжується вибухоподібним раптовим збільшенням рівня прозапальних цитокінів, очікується цитокін-опосередковане зростання активності iNOS, а, відповідно, і підвищення вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту в легеневої тканині та виснаження L-аргініну. Через припущення про можливе збільшення активності і конститутивних форм NOS було вирішено зосередитись на визначенні сумарної активності NOS за умов вищевказаної ізолюваної та поєднаної патології. Викликає зацікавленість вивчення

особливостей впливу лікарських засобів з антиоксидантними властивостями, таких як корвітин та тіотриазолін, на динаміку зрушень зазначених параметрів, що характеризують стан системи оксиду азоту.

Метою дослідження є виявлення особливостей відхилень параметрів системи оксиду азоту легеневої тканини при алергічному альвеоліті, іммобілізаційному стресі та їх комбінації, а саме: стабільних метаболітів оксиду азоту, вмісту L-аргініну та сумарної активності синтази оксиду азоту, та визначення ефективності комбінації корвітину та тіотриазоліну щодо їх корекції.

Матеріали і методи

Визначення зрушень вищевказаних показників системи оксиду азоту було проведено на 110 самцях морських свинок, маса яких становила 180-210 г. Піддослідних тварин було розподілено на 5 груп. Перша група містила 10 інтактних тварин. У другій дослідній групі, що включала 30 морських свинок, розподілених на 3 підгрупи по 10 особин, було виконано експериментальне моделювання алергічного альвеоліту. Піддослідних тварин першої підгрупи було виведено з експерименту через 1 добу, другої — на 14 добу, а третьої — на 24. Третя група, чисельністю 30 дослідних морських свинок, стосовно яких було проведено експериментальну постановку іммобілізаційного стресу, також складалася з трьох підгруп по 10 особин, які аналогічно відповідним підгрупам другої групи, було виведено з експерименту у вищевказані доби. Четверта дослідна група — 30 тварин з експериментальним поєднанням алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу. Дана група, як і друга та третя, включала 3 підгрупи по 10 морських свинок, виведення кожної з яких з експерименту відбувалось у відповідні терміни, зазначені вище. П'ята дослідна група містила 10 тварин з експериментальним відтворенням алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу, яким з 14 до 24 доби впродовж 10 днів 1 раз на

добу вводили тіотриазолін (виробництво ПАТ “Галичфарм”) в дозі 50 мг/кг внутрішньом'язово та корвітин (виробництво “Борщагівського хіміко-фармацевтичного заводу”) у дозуванні 40 мг/кг внутрішньоочередовно. Виведення морських свинок з експерименту здійснювалось шляхом декапітації після попереднього застосування налбуфіну гідрохлориду (виробництво ТОВ “Юрія-фарм”, Україна) у дозуванні 182 мг/кг внутрішньоочередовно. Терміни виведення з експерименту було обрано відповідно стадіям розвитку стресу: 1 доба — стадія тривоги (1-4 доби), 14 доба — стадія резистентності (5-14 доби) та 24 доба — стадія виснаження (триває від 15 доби) та моделювання АА. Особливості поводження з тваринами під час проведення досліджень відповідали нормам Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження”. З метою експериментального відтворення алергічного альвеоліту було використано методику О. О. Орехова, Ю. А. Кирилова [31], що базується на попередній імунізації повним адьювантом Фрейнда шляхом його введення в задню лапку, внутрішньом'язово, у дозі 0,2 мл, та подальшим застосуванням 0,2 мл 1 % розчину бацили Кальмета-Жерена (БЦЖ) внутрішньовенно (в хвостову вену) на 14 та 24 доби у підгрупах тварин, що не були виведені з експерименту. Постановка іммобілізаційного стресу здійснювалась за методом П. Д. Горизонтова [32], що полягає в тригодинній іммобілізації тварин на спині на операційному столику з фіксацією за кінцівки. Оцінку вмісту стабільних метаболітів NO в легеневій тканині було виконано за методом Schmidt H.H. [33], визначення рівня вільного L-аргініну — за методом Т. Л. Алейнікова, Г. В. Рубцова, Н. А. Павлова [34], а активності сумарної синтази оксиду азоту — за методикою В. В. Сумбаєва, В. В. Ясинської [35]. Статистична обробка одержаних резуль-

24-ту — на 100 % ($p < 0,01$) тобто вдвічі, відносно групи контролю (інтактних морських свинок). На 14-ту добу зазначений показник підвищився на 14,29 % ($p < 0,01$) відносно значення, зафіксованого через добу від початку дослідження, а на 24-ту добу — на 12,5 % ($p < 0,01$) порівняно зі значенням 14-ої доби. Водночас, відзначались зрушення концентрації

татів проводилась за методом Стюдента.

Результати й обговорення

За умов експериментальної постановки алергічного альвеоліту спостерігалось поступове прогресуюче зростання сумарної активності синтаз оксиду азоту та концентрації стабільних метаболітів оксиду азоту гомогенату легеневої тканини, що супроводжувалось зниженням

вмісту L-аргініну. Так, через 1 добу сумарна активність синтаз оксиду азоту підвищилась на 22,22 % ($p < 0,01$), на 14

L-аргініну протилежного характеру: вміст L-аргініну у гомогенаті легеневої тканини прогресуюче знижувався у зв'язку з його надмірним використанням синтазами оксиду азоту. Проте, через 1 добу будь-яких достовірних відхилень даного параметра виявлено не було, тоді як на 14 добу відбулось його достовірне зниження на 33,3 % ($p < 0,01$), а на 24-ту — на 50 % ($p < 0,01$) у порівнянні з інтактними морськими свинками. Варто підкреслити, що на 14-ту добу спостерігалось спадання концентрації L-аргініну в порівнянні зі значенням на 1 добу на 33,33 % ($p < 0,01$), а на 24-ту добу — на 25 % ($p < 0,01$) відносно значення 14-ої. Динаміку змін даних параметрів показано нижче (табл. 1, рис. 1).

119

Контрольна група (інтактні тварини) ($n = 10$)	0,19 ± 0,008	0,04 ± 0,004	0,06 ± 0,003
Група тварин з експериментально відтвореним алергічним альвеолітом, 1 доба ($n = 10$)	0,22 ± 0,009 *	0,06 ± 0,003 *	0,06 ± 0,005 #
Група тварин з експериментально відтвореним алергічним альвеолітом, 14 доба ($n = 10$)	0,25 ± 0,009 *	0,07 ± 0,005 *	0,04 ± 0,004 *
Група тварин з експериментально відтвореним алергічним альвеолітом, 24 доба ($n = 10$)	0,29 ± 0,02 *	0,08 ± 0,006 *	0,03 ± 0,004 *

* — $p < 0,01$ порівняно з експериментальною інтактною групою тварин.
— $p > 0,1$ порівняно з показником групи інтактних тварин.

на 16 % ($p < 0,01$) вищим, ніж на 14-ту, що вказує на прогресуюче наростання даного параметра в динаміці розвитку алергічного альвеоліту. Рівень стабільних метаболітів оксиду азоту через 1 добу збільшився на 50 % ($p < 0,01$), на 14-ту — на 75 % ($p < 0,01$), тоді як на

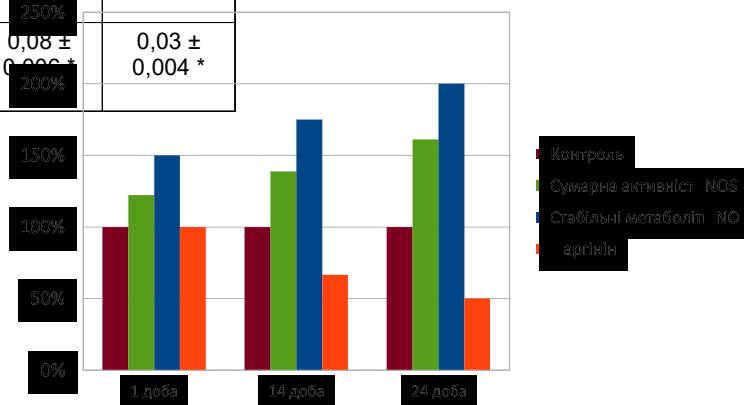


Рис. 1. Зрушення параметрів системи оксиду азоту легеневої тканини самців морських свинок в динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту (% від контролю)

Таблиця 2

Зміни параметрів системи NO в гомогенаті легеневої тканини самців морських свинок при відтворенні іммобілізаційного стресу

Група	Сумарна активність NOS, нмоль НАДФН/(хв*мг)	Стабільні метаболіти NO, мкмоль/г	L-аргінін, мкг/мл
Контрольна група (інтактні тварини) (n = 10)	0,18 ± 0,008	0,04 ± 0,004	0,06 ± 0,005
Група тварин з експериментально відтвореним іммобілізаційним стресом, 1 доба (n = 10)	0,3 ± 0,02 *	0,07 ± 0,005 *	0,04 ± 0,004 *
Група тварин з експериментально відтвореним іммобілізаційним стресом, 14 доба (n = 10)	0,24 ± 0,09 *	0,06 ± 0,005 *	0,05 ± 0,005 *
Група тварин з експериментально відтвореним іммобілізаційним стресом, 24 доба (n = 10)	0,25 ± 0,09 @	0,064 ± 0,005 *	0,043 ± 0,004 *

* — $p < 0,01$ порівняно з показником групи інтактних тварин;
@ — $p < 0,05$ порівняно з показником групи інтактних тварин;
— $p > 0,1$ порівняно з показником групи інтактних тварин

При іммобілізаційному стресі у гомогенаті легеневої тканини визначалось різке підвищення вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту та активності NOS поряд зі зменшенням рівня L-аргініну, що не мало чіткої тенденції до прогресуючого зростання. Зокрема, активність NOS посилилась через 1 добу — на 66,67 % ($p < 0,01$), на 14 добу дослідження — на 33,33 % ($p < 0,1$), а на 24-ту — на 38,89 % ($p < 0,05$) відносно показника групи інтактних тварин. Варто зазначити, що значення даного показника на 14-ту добу стало достовірно меншим, ніж через добу від початку дослідження на 20 % ($p < 0,01$). Закономірно підвищився рівень стабільних метаболітів оксиду азоту: че-

рез 1 добу відмічено раптове зростання їх вмісту в легеневій тканині морських свинок на 75 % ($p < 0,01$), тоді як на 14 добу — на 50 % ($p < 0,01$), а на 24-ту — на 60 % ($p < 0,01$) порівняно з контрольною групою дослідних тварин. На 14-ту добу також було виявлено достовірне зниження даного показника на 14,29 % ($p < 0,01$) порівняно з відповідним через добу від початку дослідження. Концентрація L-аргініну через 1 добу зменшилась на 33,33 % ($p < 0,01$) порівняно зі значенням групи інтактних морських свинок, в той час як на 14 добу експерименту — на 16,67 % ($p < 0,01$), а на 24-ту — на 28,33 % ($p < 0,01$) відносно групи контролю. Отримані результати наочно представлені нижче (табл. 2, рис. 2)

Під час експериментального відтворення алергічного альвеоліту в поєднанні з іммобілізаційним стресом було помічено різко виражене прогресуюче посилення активності сумарної NOS та підвищення рівня стабільних метаболітів оксиду азоту з тенденцією до зростання, одночасно зі спаданням у динаміці концентрації L-аргініну порівняно з відповідними показниками групи інтактних тварин. Так, активність NOS через 1 добу від початку експерименту збільшилась на 72,22 % ($p < 0,01$), тоді як на 14 добу спостерігалось її підвищення більше ніж вдвічі порівняно з контрольною групою — на 111,11 % ($p < 0,01$), коли на 24 добу таке зростання становило 122,2 % ($p < 0,01$) відносно показника групи

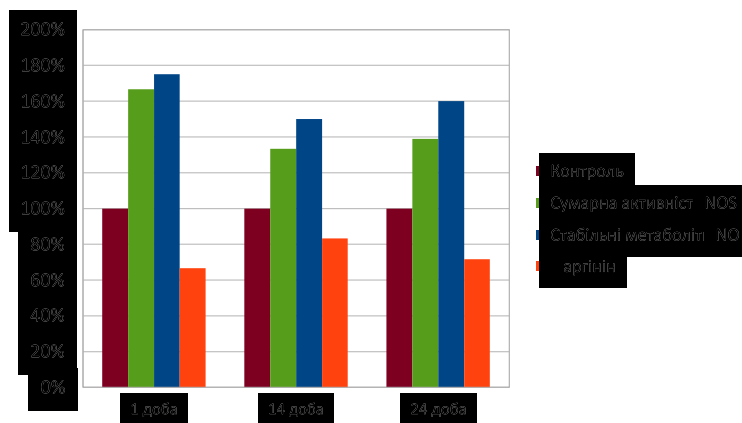


Рис. 2. Зміни показників системи оксиду азоту легеневої тканини самців морських свинок в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу (% від контролю)

Зміни параметрів системи NO в гомогенаті легеневої тканини самців морських свинок при відтворенні алергічного альвеоліту в умовах іммобілізаційного стресу

Група	Сумарна активність NOS, нмольНАДФН/(хв*мг)	Стабільні метаболіти NO, мкмоль/г	L-аргінін, мкг/мл
Контрольна група (інтактні тварини) (n = 10)	0,18 ± 0,008	0,04 ± 0,004	0,06 ± 0,005
Група тварин з експериментально відтвореним іммобілізаційним стресом, 1 доба (n = 10)	0,31 ± 0,02 *	0,07 ± 0,005 *	0,041 ± 0,004 *
Група тварин з експериментально відтвореним іммобілізаційним стресом, 14 доба (n = 10)	0,38 ± 0,04 *	0,09 ± 0,005 *	0,03 ± 0,004 *
Група тварин з експериментально відтвореним іммобілізаційним стресом, 24 доба (n = 10)	0,4 ± 0,05 *	0,096 ± 0,005 *	0,027 ± 0,003 *

* — $p < 0,01$ порівняно з показником групи інтактних тварин
— $p > 0,1$ порівняно з показником групи інтактних тварин

інтактних морських свинок. При чому на 14 добу активність NOS була вищою, ніж через добу від початку експерименту, на 22,58 % ($p < 0,01$), а на 24-ту — на 11,77 % ($p < 0,01$) нижчою в порівнянні з 14-ою, що можна пов'язувати з поступовим зменшенням утворення прозапальних цитокінів та індукції iNOS. Достовірне збільшення вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту легеневої тканини було найбільш вираженим та прогресуючим зрушенням при вищевказаній поєднаній патології: через 1 добу від початку постановки експерименту підвищився на 75 % ($p < 0,01$), на 14 добу — на 125 % ($p < 0,01$), а на 24-ту — на 140 % ($p < 0,01$) у порівнянні з контрольною групою дослідних тварин. Одночасно відзначено зро-

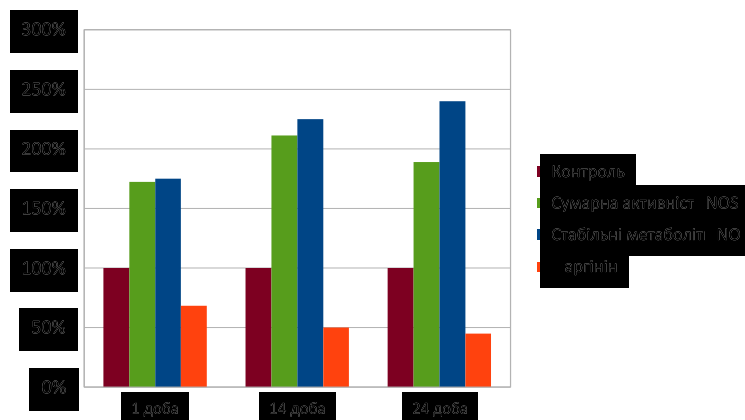


Рис. 3. Відхилення показників системи оксиду азоту гомогенату легеневої тканини самців морських свинок в динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту в умовах відтворення іммобілізаційного стресу (% від контролю)

Таблиця 3 стання значень даного параметру на 14-ту добу відносно такого через добу від початку експерименту — на 22,22 % ($p < 0,01$), а на 24-ту порівняно з 14-ою — на 6,25 % ($p < 0,01$). Враховуючи те, що для синтезу оксиду азоту та утворення його метаболітів споживається L-аргінін, зміни його концентрації набувають протилежного напрямку: через 1 добу відзна-

чено спадання його рівня на 31,67 % ($p < 0,01$), на 14-ту — на 50 % ($p < 0,01$), а на 24-ту — на 55 % ($p < 0,01$) відносно групи контролю. На 14-ту добу концентрація L-аргініну впала, порівняно з відповідним показником, зафіксованим через добу від початку проведення експерименту, на 26,83 % ($p < 0,01$). Відхилення з боку параметрів системи оксиду азоту показано нижче (табл. 3, рис. 3)

Після внутрішньоочеревинного введення корвітину (виробництво “Борщагівського хіміко-фармацевтичного заводу”) у дозі 40 мг/кг в поєднанні з внутрішньом’язовим застосуванням тіотриазоліну (виробництво ПАТ “Галичфарм”) у дозі 50 мг/кг з 14-ої по 24-ту доби у групі морських свинок з експериментальною постановкою алергічного альвеоліту в умовах іммобілізаційного стресу спостерігалось достовірне зниження активності NOS та вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту в гомогенаті легеневої тканини морських свинок поряд зі зростанням концентрації L-аргініну порівняно з відповідними значеннями параметрів у групі морських свинок з експериментально відтвореною вищевказаною поєднаною патологією, щодо яких не здійснювалось жодних

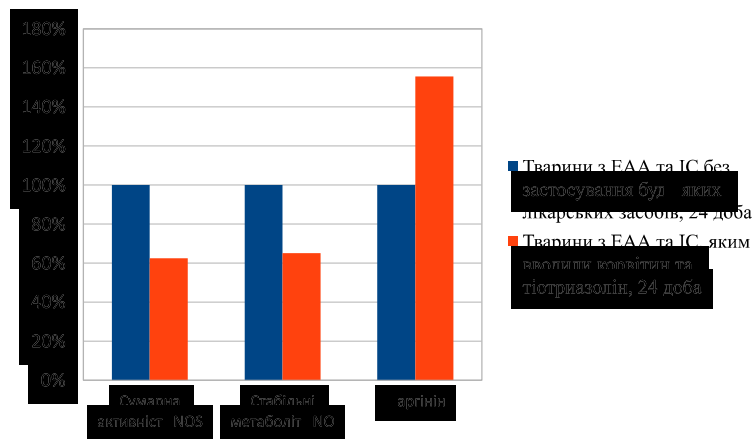


Рис. 4. Зрушення параметрів системи оксиду азоту в легеневій тканині самців морських свинок при експериментальній постановці алергічного альвеоліту в поєднанні з іммобілізаційним стресом на 24 добу дослідження без жодних фармакологічних втручань та при застосуванні корвітину і тіотриазоліну (в % відносно значень відповідних показників групи тварин з експериментальним алергічним альвеолітом та іммобілізаційним стресом, яким не здійснювалось введення будь-яких медикаментів)

фармакологічних втручань. Зокрема, активність NOS в гомогенаті легеневої тканини зменшилась на 35 % ($p < 0,01$), концентрація стабільних метаболітів оксиду азоту — на 37,5 % ($p < 0,01$), в той час як рівень L-аргініну — збільшився на 55,56 % ($p < 0,01$) (рис. 4).

Отримані результати можуть свідчити про наявність коригуючого ефекту комбінації тіотриазоліну та корвітину щодо динаміки відхилень показників системи оксиду азоту при експериментальному відтворенні алергічного альвеоліту під час іммобілізаційного стресу.

Висновки

Під час експериментальної постановки алергічного альвеоліту було відзначено схильність до інтенсивного, прогресуючого в динаміці, підвищення активності сумарної NOS та вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту в поєднанні зі зниженням рівня L-аргініну, що набувало ще більш вираженого характеру при експериментальному поєднанні алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу. При відтворенні іммобілізаційного стресу спостерігалось різке раптове збільшення сумарної активності NOS та стабільних метаболітів оксиду азоту при одночасному зменшенні концентрації L-аргініну. Дані відхилення можуть вказувати на надмірну активацію синтаз оксиду

азоту лейкоцитів, альвеоцитів та ендотеліоцитів у відповідь на гіперпродукцію прозапальних цитокінів при алергічному альвеоліті як нозології алергічно-запального генезу, стресі та їх поєднанні, з посиленою утилізацією L-аргініну для продукції оксиду азоту та наступним утворенням стабільних метаболітів NO. Було доведено наявність коригуючого ефекту комбінованого застосування тіотриазоліну та корвітину за умов вищевказаній поєднаної патології у вигляді зменшення сумарної

активності NOS і вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту та підвищення рівня L-аргініну в гомогенаті легеневої тканини морських свинок у порівнянні з відповідними значеннями показників групи дослідних тварин з відтворенням експериментального алергічного альвеоліту в умовах іммобілізаційного стресу, щодо яких не проводилось жодних фармакологічних втручань, що підтверджує необхідність подальшого вивчення впливу досліджуваних лікарських засобів на відхилення параметрів системи оксиду азоту при найрізноманітніших патологіях алергічно-запального генезу та пошуку нових лікарських засобів, здатних ліквідувати порушення з боку системи оксиду азоту, що, в даному випадку, є важливим компонентом патогенезу.

References/Література

1. Kielbik, Szulc-Kielbik, Klink. The Potential Role of iNOS in Ovarian Cancer Progression and Chemoresistance // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20, № 7. P. 1–16.
2. Sonar S.A, Lal G. The iNOS Activity During an Immune Response Controls the CNS Pathology in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis // *Front. Immunol.* 2019. Vol. 10. P. 1–13.
3. Ghasemi M., Fatemi A. Pathologic role of glial nitric oxide in adult and pediatric neuroinflammatory diseases // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2014. Vol. 45. P. 168–182.
4. Kashfi K., Kannikal J., Nath N. Macrophage Reprogramming and Cancer Therapeutics: Role

- of iNOS-Derived NO // Cells. 2021. Vol. 10, № 11. P. 1–22.
 5. Chen K.-Y., Wang L.-C. Stimulation of IL-1 β and IL-6 through NF- κ B and sonic hedgehog-dependent pathways in mouse astrocytes by excretory/secretory products of fifth-stage larval *Angiostrongylus cantonensis* // Parasit. Vectors. 2017. Vol. 10, № 1. P. 1–11.
 6. Shi Y. et al. Increased expression levels of inflammatory cytokines and adhesion molecules in lipopolysaccharide induced acute inflammatory apoM / mice // Mol. Med. Rep. 2020. Vol. 22. P. 3117–3126.
 7. Zhao Y., Vanhoutte P.M., Leung S.W.S. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS // J. Pharmacol. Sci. 2015. Vol. 129, № 2. P. 83–94.
 8. Pírez-Torres I., Guarner-Lans V., Rubio-Ruiz M.E. Reductive Stress in Inflammation-Associated Diseases and the Pro-Oxidant Effect of Antioxidant Agents // Int. J. Mol. Sci. 2017. Vol. 18, № 10. P. 1–26.
 9. O’Gallagher K. et al. Neuronal nitric oxide synthase regulates regional brain perfusion in healthy humans // Cardiovasc. Res. 2022. Vol. 118, № 5. P. 1321–1329.
 10. Toral M. et al. The NO signalling pathway in aortic aneurysm and dissection // Br. J. Pharmacol. 2022. Vol. 179, № 7. P. 1287–1303.
 11. Chachlaki K., Prevot V. Nitric oxide signalling in the brain and its control of bodily functions // Br. J. Pharmacol. 2020. Vol. 177, № 24. P. 5437–5458.
 12. Pírez-Torres I. et al. Nitrosative Stress and Its Association with Cardiometabolic Disorders // Molecules. 2020. Vol. 25, № 11. P. 1–24.
 13. Gebhart V. et al. Site and mechanism of uncoupling of nitric-oxide synthase: Uncoupling by monomerization and other misconceptions // Nitric Oxide. 2019. Vol. 89. P. 14–21.
 14. Tran N. et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) and the Cardiovascular System: in Physiology and in Disease States. // Am. J. Biomed. Sci. Res. 2022. Vol. 15, № 2. P. 153–177.
 15. Guimarrès L.M.F., Rossini C.V.T., Lameu C. Implications of SARS-Cov-2 infection on eNOS and iNOS activity: Consequences for the respiratory and vascular systems // Nitric Oxide. 2021. Vol. 111–112. P. 64–71.
 16. van den Berg M.P., Meurs H., Gosens R. Targeting arginase and nitric oxide metabolism in chronic airway diseases and their co-morbidities // Curr. Opin. Pharmacol. 2018. Vol. 40. P. 126–133.
 17. Pautz A, Li H., Kleinert H. Regulation of NOS expression in vascular diseases // Front. Biosci. 2021. Vol. 26, № 5. P. 85–101.
 18. Kasamatsu S. et al. Redox Signaling Regulated by Cysteine Persulfide and Protein Polysulfidation // Molecules. 2016. Vol. 21, № 12. P. 1–10.
 19. Ahmad N., Ansari M.Y., Haqqi T.M. Role of iNOS in osteoarthritis: Pathological and therapeutic aspects // J. Cell. Physiol. 2020. Vol. 235, № 10. P. 6366–6376.
 20. Wang Y., Hong F., Yang S. Roles of Nitric Oxide in Brain Ischemia and Reperfusion // Int. J. Mol. Sci. 2022. Vol. 23, № 8. P. 1–13.
 21. Wolhuter K. et al. Evidence against Stable Protein S-Nitrosylation as a Widespread Mechanism of Post-translational Regulation // Mol. Cell. 2018. Vol. 69, № 3. P. 438–450.
 22. Giatromanolaki A. et al. iNOS Expression by Tumor-Infiltrating Lymphocytes, PD-L1 and Prognosis in Non-Small-Cell Lung Cancer // Cancers (Basel). 2020. Vol. 12, № 11. P. 1–11.
 23. Prado C.M. et al. iNOS Inhibition Reduces Lung Mechanical Alterations and Remodeling Induced by Particulate Matter in Mice // Pulm. Med. 2019. Vol. 2019. P. 1–12.
 24. de la Fuente-Alonso A. et al. Aortic disease in Marfan syndrome is caused by overactivation of sGC-PRKG signaling by NO // Nat. Commun. 2021. Vol. 12, № 1. P. 1–18.
 25. Zhou Q.-G. et al. Neuronal nitric oxide synthase and affective disorders // IBRO Reports. 2018. Vol. 5. P. 116–132.
 26. Kourosh-Arami M. et al. Neurophysiologic implications of neuronal nitric oxide synthase / // Rev. Neurosci. 2020. Vol. 31, № 6. P. 617–636.
 27. Biojone C. et al. nNOS-induced tyrosine nitration of TRKB impairs BDNF signaling and restrains neuronal plasticity // Prog. Neurobiol. 2023. Vol. 222. P. 1–12.
 28. Liang H.-Y. et al. nNOS-expressing neurons in the vmPFC transform pPVT-derived chronic pain signals into anxiety behaviors // Nat. Commun. 2020. Vol. 11, № 1. P. 1–18.
 29. Echagarruga C.T. et al. nNOS-expressing interneurons control basal and behaviorally evoked arterial dilation in somatosensory cortex of mice // Elife. 2020. Vol. 9. P. 1–39.
 30. Liskova S. The organ-specific nitric oxide synthase activity in the interaction with sympathetic nerve activity: a hypothesis // Physiol. Res. 2021. Vol. 70, № 2. P. 169–175.
 31. Orekhov O.O., Kyrylov Yu.A. Pathomorphology of the lungs and microcirculatory channel of the small blood circulation in chronic experimental allergic alveolitis. // Archives of pathology. 1985. Vol. 10, pp. 54–61.
- Орехов О.О., Кирилов Ю.А. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экс-

- периментальном алергическом альвеолите. // Архив патологии. 1985. Т. 10. С. 54–61.
32. Горизонтов П.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс и система крови. Медицина. 1983. 239 с.
33. Schmidt H.H. Determination of Nitrite and Nitrate in Culture Media // Acta Biochem. 1995. Vol. 2. P. 323–327.
34. Alejnikova T.L., Rubtsova G. V., Pavlova N.A. Manuals for practical lessons in biochemistry. Moscow: Medicine. 1988. 239 p.
35. Sumbajev V. V., Jasinskaja I.M. The influence of DDT on the activity of nitric oxide synthase in liver, lungs and brain of rats // Mod. Probl. Toxicol. 2000. Vol. 3. P. 3–7.
36. Exogenous allergic alveolitis. Monograph. Third edition, add. and trans. Regeda M.S., Regeda-Furdychko M.M., Haiduchok I.H., Furdychko L.O., Regeda S.M., Pyndus V.B., Sementsiv N.G., Lviv, 2022.–238 с.
- Екзогенний алергічний альвеоліт. Монографія. Видання третє, доп. та пер. Регеда М.С., Регеда-Фурдичко М.М., Гайдучок І.Г., Фурдичко Л.О., Регеда С.М., Пиндус В.Б., Семенців Н.Г., Львів, 2022.–238 с.
- Вперше надійшла до редакції 05.05.2023 р.
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування

УДК: 616.314.18-002.4-099:612.76:616.155.3-097.37:615.21/.26]-092.9
DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo10418158>

ОЦІНКА ВПЛИВУ ТІОЦЕТАМУ НА РІВЕНЬ ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ ТА ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

Регеда М.С., Олекшій П.В., Гайдучок І.Г.

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
Львівський медичний університет
lvivmeduniver@gmail.com

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ТИОЦЕТАМА НА УРОВЕНЬ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПО УСЛОВИЯМ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТА И ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

Регеда М.С., Олекший П.В., Гайдучок И.Г.

Львовский национальный медицинский университет им. Даниила Галицкого
Львовский медицинский университет

EVALUATION OF THE INFLUENCE OF THIO CETAM ON THE LEVEL OF ENDOGENOUS INTOXICATION UNDER THE CONDITIONS OF THE FORMATION OF EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AND IMMOBILIZATION STRESS

Regeda M.S., Olekshii P.V., Haiduchok I.G.

Lviv National Medical University named after Danylo Halytskyi
Lviv Medical University

Summary/Резюме

The results of biochemical studies showed that at all stages of the development of experimental periodontitis and immobilization stress, there is a consistent increase in the