

О.С. Хромов, І.В. Іванова, О.В. Стефанов

Блокада синтезу оксиду азоту не попереджує розвиток резистентної гіпотонії та загибелі щурів у разі бактеріального шоку

Инфицирование крыс-самцов линии Вистар смесью грамположительных и грамотрицательных культур приводило к развитию патологического процесса, который может быть расценен как бактериальный шок. Отмечено первоначальное возникновение нарушений кровообращения, связанное с угнетением насосной и сократительной функций миокарда. Введение инфицированным животным метиленового синего или блокаторов оксида азота – синтазы NO (L-NAME, S-метилтиомочевина) в момент развития у них гипотонии приводило лишь к кратковременному повышению давления крови. Продолжительность жизни таких животных была достоверно меньшей по сравнению с контрольными инфицированными животными. Повторное введение указанных веществ лишь ускоряло наступление гибели экспериментальных животных. В опытах in vitro было выявлено полное отсутствие дилататорного влияния ацетилхолина при сохраненной чувствительности сосудистых препаратов к адrenomиметикам и экзогенному NO как у контрольных инфицированных животных, так и у животных, которым вводили метиленовый синий или блокаторы синтазы NO. Полученные результаты позволили предположить, что резистентная гипотония на терминальных стадиях септического шока мало зависит от NO.

ВСТУП

Шок, викликаний генералізацією гнійної інфекції, – це критичний стан, який вимагає невідкладного лікування. Як і при інших патологічних процесах, що супроводжуються гіпотонією, знижується перфузія життєво важливих органів, що призводить до поліорганної недостатності та смерті хворого. Нині немає єдиної думки відносно механізмів розвитку та терапії септичного шоку, проте більшість дослідників як характерну його ознаку виділяють стійку, так звану "некеровану" або "резистентну" гіпотензію [17]. Таке зниження тону су пов'язане з плегією гладеньких м'язів судин, і цю гіпотензію не вдається усунути використанням катехоламінів у вазоконстрикторних дозах. Більше того, багато фармакологічних препаратів за цих умов

чинять інвертовану дію на систему кровообігу [10]. Одним із можливих пояснень цього феномена може бути активація синтази оксиду азоту (NOS) під впливом ліпополісахаридів, внаслідок чого відбувається збільшення вивільнення NO. Тому багато дослідників вважають його основним медіатором судинних порушень при шоку [14].

Мета роботи – вивчення можливості застосування різних блокаторів NOS для попередження/корекції артеріальної гіпотонії при експериментальному шоку, що зумовлений масивним інфікуванням дослідних тварин.

МЕТОДИКА

Основні серії експериментальних досліджень були проведені на 52 дорослих білих

© О.С. Хромов, І.В. Іванова, О.В. Стефанов

щурах-самцях лінії Вістар масою $320 \text{ г} \pm 80 \text{ г}$ під внутрішньоочеревинним наркозом сумішшю хлоралоузи й уретану. Операційну підготовку та катетеризацію судин виконували як описано раніше [3]. Всі тварини були розділені на групи: I – псевдооперовані (16 тварин), яким після операційної підготовки та реєстрації вихідних показників гемодинаміки внутрішньоочеревинно вводили фізіологічний розчин; II – контрольна група (18 тварин), які після операційної підготовки та реєстрації вихідних показників гемодинаміки були інфіковані сумішшю мікроорганізмів; III – дослідна група, яка складалася з 18 щурів, яким вводили метиленовий синій, з 6 щурів, яким вводили метиловий ефір N^w-нітро-L-аргініну (L-NAME) та 6 тварин, яким вводили S-метилтіоізоосечовину (MTC).

Для моделювання шоку тваринам внутрішньоочеревинно вводили суміш добових культур *Staphylococcus aureus* і *Bacillus ruosuaenus* із розрахунку 1 млрд мікробних тіл кожного виду на 100 г маси тіла [4].

Під час досліджень реєстрували електрокардіограму у II стандартному відведенні, першу похідну трансторакальної імпедансної реоплетизмограми (ТТІРПГ), тиск у порожнині лівого шлуночка, його першу похідну, систолічний і діастолічний тиск крові у черевному відділі аорти. Синхронний запис експериментальних кривих здійснювали на 8-канальному поліграфі RB-85 ("Nihon Kohden", Японія). Ударний і хвилинний об'єм крові (УОК і ХОК відповідно) визначали методом ТТІРПГ за допомогою реоплетизмографа РПГ2-02 (Росія) з використанням формули Кубічека [13]. Для характеристики скорочувальної активності міокарда розраховували індекс скоротливості (ІС) Верагута [22]. Середній артеріальний тиск (АТ), загальний периферичний опір судин визначали за загальноприйнятими формулами [1].

Після 20–30-хвилинної експозиції, пов'язаної з необхідністю стабілізації гемодина-

міки, в усіх тварин реєстрували початкові значення досліджуваних показників кровообігу, після чого здійснювали інфікування тварин контрольної та дослідних груп. Графічна реєстрація вимірюваних показників відбувалася через кожні 5 хв, а накопичення даних у комп'ютері – через кожні 2 с.

Для вивчення скорочувальної активності гладеньких м'язів судин були використані ділянки грудної аорти, виділені у тварин контрольної та дослідних груп одразу після їх смерті, а у псевдооперованих тварин – після закінчення періоду, що відповідав часу з моменту наркотизації до смерті тварин контрольної групи. Об'єктом досліджень були кільцеві сегменти грудної аорти. Реєстрацію скорочувальної активності м'язових сегментів здійснювали в ізометричному режимі за допомогою ємнісних датчиків. Скорочення реєстрували за допомогою багатоканального самописця Н3031-4 (Росія) або аналого-цифрового перетворювача, з'єданого з персональним комп'ютером. Підготовку судинних препаратів проводили як описано раніше [19].

При проведенні досліджень *in vivo* використовували метиленовий синій (0,5, 1,0 і 2,0 мг/100 г), метиловий ефір L-NAME (0,5, 1,0 і 2,0 мг/100 г) і МТС (0,1, 0,15 і 0,2 мг/100 г). Речовини ("Serva", Німеччина) вводили тваринам через 200–220 хв після інфікування, тобто при зменшенні систолічного артеріального тиску (АТС) на 50 мм рт. ст. Крім того, в дослідах *in vitro* застосовували такі розчини: ацетилхолін ("Serva", Німеччина) у концентраціях 10^{-5} і 10^{-4} моль/л; нітропрусид натрію ("Sigma", США) – 10^{-5} моль/л; SIN-1 ("Sigma", США) – 10^{-5} моль/л; фенілефрин ("Serva", Німеччина) – 10^{-5} моль/л. Досліджувані речовини вводили безпосередньо у робочу камеру в об'ємі 0,5 мл при швидкому та ретельному перемішуванні, тому зміна розчинів у камері (зміна концентрації агентів) здійснювалася протягом 2–3 с.

Добові культури мікроорганізмів були надані лабораторією мікробіології Інституту трансплантології, клінічної і експериментальної хірургії АМН України.

Перетворення отриманих аналогових сигналів у цифрову форму здійснювали аналого-цифровим конвертором ADC ("HSE", Німеччина), а подальшу обробку отриманих сигналів – за допомогою програми "Haemodun" ("HSE", Німеччина).

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням критерію t Стюдента. Достовірними вважалися зміни при $P < 0,05$ [2].

РЕЗУЛЬТАТИ

Введення щурам змішаної культури мікроорганізмів призводило до розвитку прогресуючих з часом змін системної гемодинаміки. Ці порушення проявлялись у пригніченні насосної та скоротливої функцій серця (табл. 1). Тривалість життя тварин контрольної групи становила $280 \text{ хв} \pm 22 \text{ хв}$.

Результати досліджень свідчать про розвиток у тварин тяжкого патологічного процесу, етіологічно пов'язаного з їх інфікуванням. Зовнішнім проявом цього проце-

су була шокова реакція системного кровообігу, що призводила до загибелі тварин.

Як видно з рис. 1, при введенні КСІ скорочення кільцевого сегмента аорти псевдооперованих тварин, на відміну від щурів контрольної групи, розвивалося раніше і було більш вираженим ($+6,7 \pm 0,6$ і $+2,8 \text{ мН} \pm 0,3 \text{ мН}$ відповідно; $P < 0,001$). Додавання у буферний розчин нітропрусиду натрію призводило до розслаблення судинних препаратів обох груп ($-3,0 \pm 0,2$ і $-1,0 \text{ мН} \pm 0,1 \text{ мН}$ відповідно; $P < 0,001$). Водночас фенілефрин викликав досить чітко виражені констрикторні реакції сегментів судин щурів обох груп ($+5,2 \pm 0,6$ і $+4,2 \text{ мН} \pm 0,3 \text{ мН}$ відповідно; $P > 0,05$). На відміну від дії у псевдооперованих тварин, ацетилхолін майже не знижував силу скорочення, що розвивалося у щурів контрольної групи ($-2,9 \pm 0,2$ і $-0,4 \text{ мН} \pm 0,07 \text{ мН}$ відповідно; $P < 0,001$). Додавання у перфузійне середовище нітропрусиду натрію на фоні ацетилхоліну значно збільшувало розслаблення судинного препарату аорти псевдооперованих тварин, чого не спостерігалось в судинах контрольних щурів ($-3,0 \pm 0,1$ і $-1,3 \text{ мН} \pm 0,1 \text{ мН}$ відповідно; $P < 0,001$). Відсутність розслаблення судинного препарату контрольних

Таблиця 1. Зміни показників кардіо- і гемодинаміки у щурів контрольної групи при внутрішньоочеревинному введенні змішаної культури *Staphylococcus aureus* і *B. ruoscyaneus* ($M \pm m$)

Показник, група тварин	Початкові значення	Час після введення препарату, хв				
		60	120	180	240	270
Середній артеріальний тиск, мм рт.ст						
псевдооперовані (n = 16)	94,1±8,6	96,5±9,1	88,3±8,7	86,4±8,8	82,8±8,3	81,5±8,3
контрольні (n = 18)	110,6±9,3	105,1±5,2	92,4±6,8	65,5±6,4	58,6±5,2	39,1±4,1
	$P_1 > 0,05$			$P < 0,01$	$P < 0,01$	$P_1 < 0,001$
Хвилинний об'єм крові, мл/хв						
псевдооперовані (n = 16)	63,5±7,4	64,6±6,9	62,7±7,1	59,5±6,5	60,7±6,2	58,5±5,7
контрольні (n = 18)	70,0±6,8	66,6±5,6	69,4±7,0	68,9±6,9	42,8±4,4	23,4±2,5
					$P < 0,05$	$P < 0,001$
					$P_1 < 0,05$	$P_1 < 0,001$
Індекс скоротливості, s^{-1}						
псевдооперовані (n = 16)	87,2±8,2	86,3±8,7	87,0±8,6	79,6±8,1	80,1±8,0	78,1±7,6
контрольні (n = 18)	70,2±8,6	64,7±1,8	57,9±5,7	46,1±3,4	41,0±5,6	32,4±3,5
			$P_1 < 0,01$	$P_1 < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$
					$P_1 < 0,001$	$P_1 < 0,001$

Примітка: Тут і в табл. 2–4: P – достовірність розбіжностей порівняно з початковими значеннями, P_1 – порівняно зі значеннями у псевдооперованих тварин.

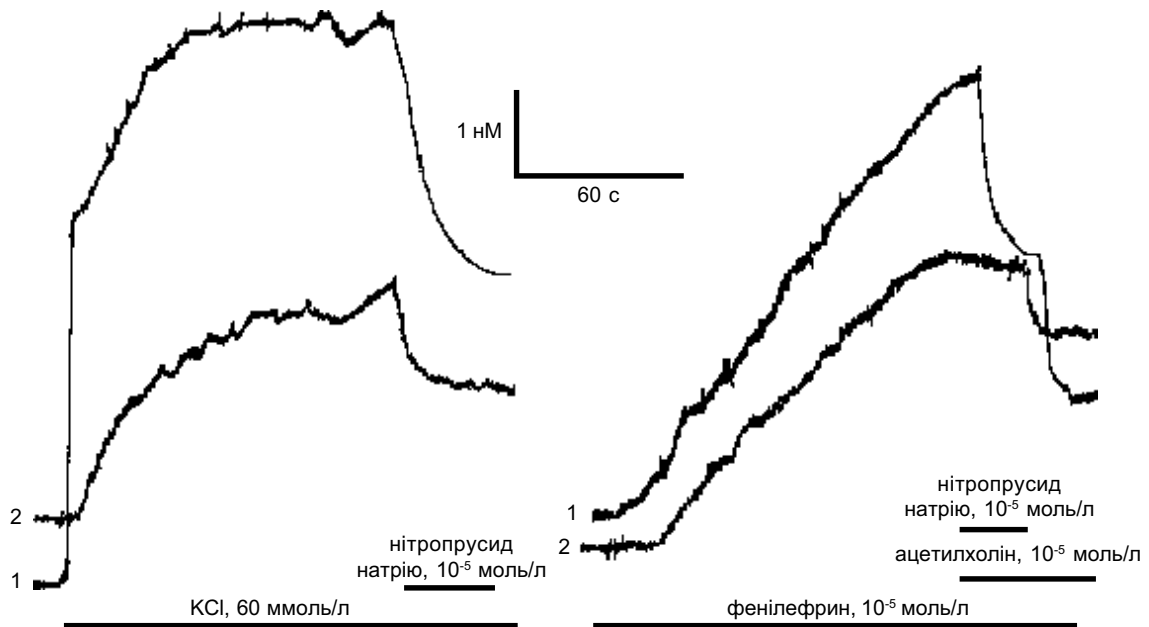


Рис. 1. Зміна скорочувальної активності судинного препарату (аорта щура) при генералізованій гнійній інфекції: 1 – псевдооперовані тварини; 2 – контрольні тварини

тварин на введення ацетилхоліну при збереженій чутливості до адреноміметиків і донорів NO може свідчити або про втрату ендотелієм здатності до адекватної секреції NO, або про функціональне (структурне) його пошкодження.

Внутрішньовенне введення метиленового синього у дозі 0,5 мг/100 г [11] призводило до суттєвої зміни перебігу патологічного процесу (табл. 2). Значно швидше розвивалася шокова реакція, і смерть

тварин наставала раніше. Збільшення дози метиленового синього до 1,0, а потім до 2,0 мг/100 г не призводило до будь-яких змін перебігу шоку порівняно з початковою дозою. В усіх трьох серіях експериментів смерть тварин наставала раніше, ніж у контрольних щурів. Середня тривалість життя цих тварин становила 208,4 хв ± 20,9 хв (P < 0,05).

У відповідь на дію KCl скорочення кільцевого сегмента низхідної аорти, отри-

Таблиця 2. Вплив метиленового синього на зміні показників кардіо- і гемодинаміки у інфікованих щурів (M±m; n = 6)

Показник	Початкові значення	Час після інфікування, хв			
		60	120	180	200
Тиск у лівому шлуночку, мм рт.ст.	115,6±6,8	114,5±7,3	97,8±9,9	65,5±6,3	42,4±3,5
				P<0,001	P<0,001
Середній артеріальний тиск, мм рт.ст.	110,5±9,8	105,1±6,2	83,8±9,2	52,7±5,6	38,9±4,1
				P<0,001	P<0,001
Хвилинний об'єм крові, мл/хв	73,2±7,6	64,6±5,7	54,9±6,0	41,7±4,1	21,7±2,3
				P<0,01	P<0,001
Загальний периферичний опір, мН·с·м ⁻⁴	120,8±12,6	130,2±11,2	122,1±12,4	101,1±9,6	124,6±12,7
Індекс скоротливості, с ⁻¹	70,2±8,6	64,7±1,8	59,3±4,3	40,6±3,8	30,5±2,9
					P<0,01

маного у дослідних щурів, яким вводили метиленовий синій, розвивалось із затримкою і було слабо вираженим ($+3,2 \text{ мН} \pm 0,3 \text{ мН}$; $P < 0,001$ у порівнянні з псевдооперованими). На цьому фоні ацетилхолін не тільки не знижував силу розвиненого скорочення гладеньких м'язів судин у дослідних тварин, але і досить часто викликав констрикцію судинних препаратів ($+0,8 \text{ мН} \pm 0,1 \text{ мН}$; $P < 0,001$ у порівнянні з псевдооперованими). Введення у буферний розчин нітропрусиду натрію призводило до розслаблення судинних препаратів ($-0,7 \text{ мН} \pm 0,1 \text{ мН}$; $P < 0,001$ у порівнянні з псевдооперованими). Слід відмітити (рис. 2) дилататорну реакцію судинного препарату на нітропрусиду натрію на фоні блокади циклічної гуанілатциклази, оскільки, враховуючи блокаду цього ферменту-"мішені" для NO метиленовим синім, можна було очікувати відсутність його дилататорної дії. Цей факт дозволяє припустити наявність механізму дії NO, що не пов'язаний з активацією циклічної гуанілатциклази.

Перед вивченням впливу L-NAME і МТС на розвиток гемодинамічних порушень при модельованому патологічному процесі потрібно було визначити необхідні дози речовин. Внутрішньовенне введення псевдооперованим тваринам як L-NAME, так і МТС супроводжувалося дозозалежним збільшенням АТ, яке набувало достовірних значень, починаючи з доз 0,25 мг (L-NAME) і 0,15 мг (МТС) на 100 г маси тіла. Гіпертензивна реакція розвивалась через 70 ± 4 і $40 \text{ с} \pm 4 \text{ с}$ відповідно, тривалість яких для обох речовин становила $55 \text{ хв} \pm 7 \text{ хв}$. Подальше збільшення дози не призводило до суттєвих змін максимального рівня АТ. Тому для подальшого вивчення були вибрані саме ці дози.

Введення як L-NAME, так і МТС призводило до деякого покращення кровообігу у цих тварин. Це проявлялось у підвищенні АТ з одночасним збільшенням ХОК та ІС. Слід зазначити, що при введенні L-NAME

підвищення АТ супроводжувалося збільшенням ХОК, тоді як при введенні МТС відбувалося значне підвищення загального периферичного опору. Період відносної стабілізації середнього АТ для обох речовин становив $53 \text{ хв} \pm 8 \text{ хв}$, і його можна порівняти з тривалістю їх дії у псевдооперованих тварин. Надалі розвивалася гіпотонія, знижувалися насосна та скоротлива функції серця (табл. 3, 4). Повторне введення L-NAME або МТС у момент розвитку гіпотонії призводило до значного погіршення стану експериментальних тварин і швидкої декомпенсації кровообігу. Загибель тварин, як правило, наставала через 10–15 хв після повторного введення цих речовин. Типовий розвиток декомпенсованих порушень кровообігу після повторного введення L-NAME показано на рис. 3. Загальна тривалість життя після інфікування тварин і введення L-NAME становила $286 \text{ хв} \pm 18 \text{ хв}$, а МТС – $253 \text{ хв} \pm 26 \text{ хв}$ і достовірно не відрізнялася від контролю ($253 \text{ хв} \pm 22 \text{ хв}$; $P > 0,05$).

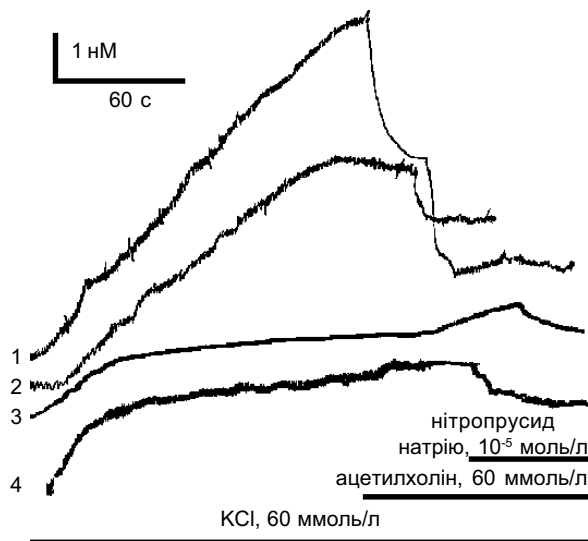


Рис. 2. Зміна скорочувальної активності судинних препаратів при введенні метиленового синього та Nw-нітро- L-аргініну (L-NAME): 1 – псевдооперовані тварини; 2 – контрольні тварини; 3 – дослідні тварини після введення метиленового синього; 4 – дослідні тварини після введення L-NAME

Таблиця 3. Вплив Nw-нітро-L-аргініну на показники кардіо- і гемодинаміки у інфікованих щурів (M±m; n = 6)

Показник	Початкові значення	Час після інфікування, хв					
		60	120	180	210	240	270
Тиск у лівому шлуночку, мм рт.ст.	125,7±16,9	119,6±8,3	97,5±8,9	78,7±6,3 P<0,05	38,9±3,4 P<0,001	97,3±5,3 P>0,05	46,4±3,2 P<0,001
Середній артеріальний тиск, мм рт.ст.	119,8±9,6	108,4±9,7	91,0±7,6 P>0,05	67,7±5,4 P<0,001	37,2±3,8 P<0,001	93,1±8,7	38,8±4,0 P<0,001
Хвилинний об'єм крові, мл/хв	75,4±7,3	69,8±6,3	55,1±5,8 P>0,05	41,5±3,9 P<0,01	24,2±2,1 P<0,001	49,7±4,8 P<0,05	22,0±2,3 P<0,001
Загальний периферичний опір, МН · с·м ⁻⁴	126,6±10,9	124,1±11,2	132,1±11,6	130,5±9,5	122,9±12,3	149,9±13,8	143,1±12,7
Індекс скоротливості, с ⁻¹	71,5±8,2	67,9±5,9	60,5±5,6	41,3±3,7 P<0,05	32,5±2,9 P<0,001	49,5±4,1 P<0,05	30,6±2,8 P<0,001

Як видно з рис. 2, ацетилхолін у тварин дослідної групи (L-NAME) не зменшував силу викликаного фенілефрином скорочення, тоді як у псевдооперованих і контрольних тварин відбувалося її зниження (+0,1 ± 0,1 щодо -2,9 ± 0,2 і -0,4 мН ± 0,3 мН

відповідно; P < 0,001 у порівнянні з псевдооперованими). Внесення у буферний розчин нітропрусиду натрію призводило до розслаблення судинних препаратів у дослідних, псевдооперованих і контрольних тварин (-1,5 ± 0,2 щодо -1,7 ± 0,1 і -1,3 мН ± 0,1 мН).

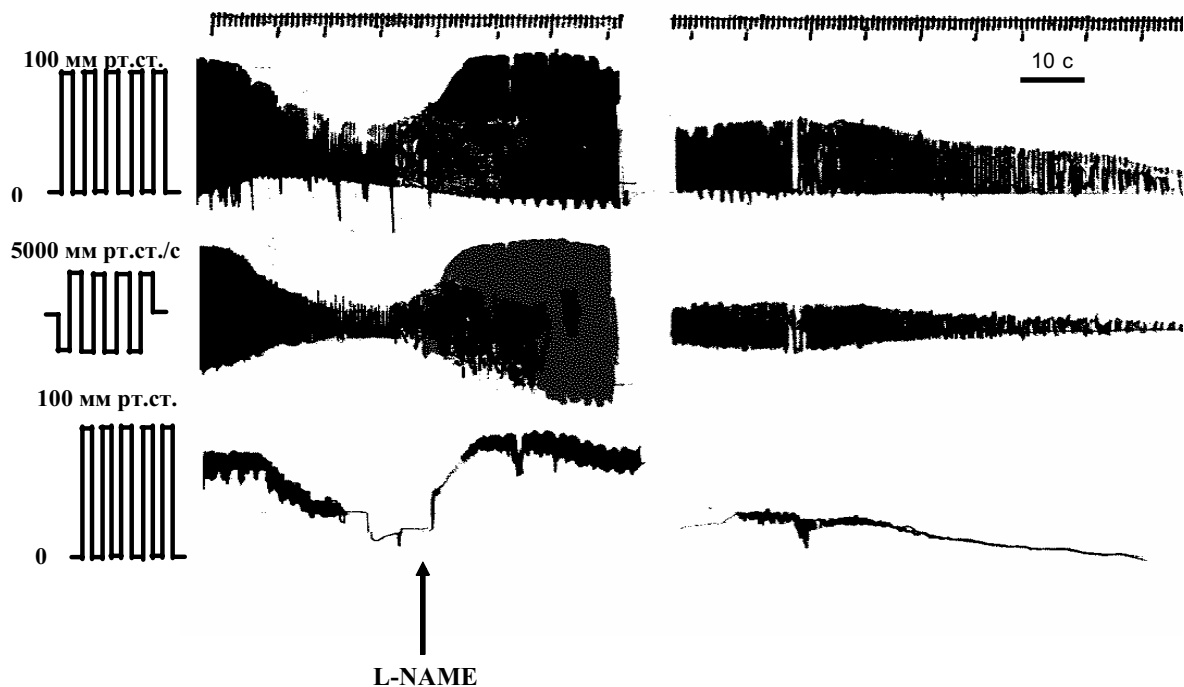


Рис. 3. Розвиток декомпенсованих порушень кровообігу після повторного введення N^o-нітро- L-аргініну (L-NAME) дослідним тваринам: 1 – тиск у лівому шлуночку серця, 2 – dP/dt, 3 – тиск у грудному відділі аорти

Таблиця 4. Вплив S-метилгітіозосечовини на зміни показників кардіо- і гемодинаміки у інфікованих щурів (M ± m; n = 6)

Показник	Початкові значення	Час після інфікування, хв					
		60	120	180	210	225	240
Тиск у лівому шлуночку, мм рт.ст.	109,7±9,8	101,4±9,6	89,6±5,2	73,7±4,9 P<0,01	46,7±3,8 P<0,001	63,3±4,2 P<0,01	48,6±3,9 P<0,001
Середній артеріальний тиск, мм рт.ст.	109,3±9,2	100,4±8,8	87,2±7,8	69,2±5,6 P<0,01	39,0±3,7 P<0,001	61,5±5,8 P>0,01	40,2±3,9 P<0,001
Хвилинний об'єм крові, мл/хв	79,6±7,7	62,8±6,0	52,5±5,2	40,3±4,0 P<0,01	23,7±2,5 P<0,001	32,4±2,9 P<0,01	23,1±2,4 P<0,001
Загальний периферичний опір, мН · с · м ⁻⁴	109,8±9,8	138,1±11,7	132,9±11,6	137,4±12,1	131,6±12,4	151,7±14,7	139,4±12,8
Індекс скоротливості, с ⁻¹	76,0±7,0	69,9±6,1	60,0±5,4	40,8±4,0 P<0,05	30,9±3,2 P<0,001	58,7±5,5 P<0,05	31,4±3,6 P<0,001

ОБГОВОРЕННЯ

Спонтанна гіпотензія є однією з основних причин розвитку множинної органної недостатності при сепсисі [17]. Можливим поясненням такого стійкого зниження тону периферичних судин є вивільнення вазодилаторних речовин. Останнім часом приділяється велика увага ролі NO як "ключа запалювання" комплексу змін, передусім судинних, що відбуваються при генералізованій гнійній інфекції. Він пригнічує процеси дихання у мітохондріях, транскрипцію ДНК, бере участь у продукції пероксинітриду, який чинить цитотоксичну дію, а також викликає дилатацію судин, перивазальний набряк, місцеву та загальну гіпотензію. Водночас NO викликає порушення мікроциркуляції у печінці та легенях з цитотоксичним впливом на клітини цих органів. Підвищення продукції NO при септичному шоку зумовлено активацією індукбельної NOS (iNOS) бактеріальними ендотоксинами [8]. Більшість дослідників вважають саме NO відповідальним за розвиток і за підтримку резистентної гіпотонії у разі септичного шоку [14]. Ця гіпотеза була перевірена численними експериментами [9, 10, 12].

Судинні порушення при септичному шоку є практично загальним явищем; тобто реакція у відповідь на різні агенти, котрі здатні скорочувати гладенькі м'язи судин, порушується незалежно від наявності або відсутності ендотелію. Зниження реакції на дію ацетилхоліну у кільцевих препаратах коронарної артерії, виділеної у щура після введення ендотоксину, і збереження її на дію нітропрусиду свідчить про порушення ендотелійзалежних вазодилаторних реакцій у коронарних артеріях при ендотоксемії і про те, що це може бути пов'язано зі зменшенням вивільнення NO [6]. Отримані нами в експериментах *in vivo* та *in vitro* результати свідчать про порушення у інфікованих тварин констрикторної реакції гладеньких м'язів судин на введення KCl і дилаторної відповіді на стимуляцію ендотелію ацетилхоліном і введення донорів NO, що добре узгоджується з літературними даними.

Ще одним доказом участі NO у розвитку декомпенсованих порушень кровообігу у разі септичного шоку вважається надмірне накопичення в судинах цГМФ, яке попереджується додаванням L-NAME. Гальмування гуанілатциклази при використанні метиленового синього або LY 83583

відновлювало реакції у кільцях аорти щурів, яким вводили ЛПС [23].

Гальмування синтезу NO могло б розірвати порочне коло підвищення серцевого викиду і вираженого зниження системного судинного опору. Іншим підходом могло б стати гальмування гуанілатних циклів, наприклад за допомогою метиленового синього, хоча залишається невідомим, чи дозволить це усунути у експериментальних тварин *in vivo* судинну гіпореактивність, викликану ендотоксином. Перші результати на користь перспективності цього шляху вже були отримані [15]. Позитивний результат також відзначено і при блокаді циклічної гуанілатциклази [17].

З'явилися також відомості про те, що шок не пов'язаний з гіперпродукцією NO, і, більш того, NO виконує захисну (протекторну) функцію, особливо на ранніх стадіях процесу, а базальний рівень активності NOS не впливає на динаміку розвитку порушень кровообігу і смертність тварин при введенні ліпополісахаридів. Стало зрозуміло, що останні впливають на регуляцію кровотоку, знижуючи вазодилаторні реакції [17].

У наших дослідженнях було виявлено скорочення тривалості життя інфікованих тварин після введення блокаторів NOS або гуанілатциклази, яке не залежало від дози і часу введення цих речовин. Ми не спостерігали позитивної динаміки у розвитку дилаторної реакції у відповідь на донори NO, більше того, при введенні KCl відбувалося зниження констрикції судин, виділених у інфікованих тварин, яким попередньо вводили блокатори NOS або циклічної гуанілатциклази. Поясненням цього може бути те, що застосування блокаторів синтезу NO у тварин із септичним шоком, крім підвищення артеріального тиску, призводить до зниження серцевого викиду і тяжких порушень тканинної оксигенації [14], не попереджує розвиток функціональних і морфологічних порушень у печінці і не знижує смертність [7]. Деякі

дослідники пов'язують підвищення середнього АТ при введенні блокатора NOS тваринам із септичним шоком з проявами констрикторної дії ендотеліну-1 і посиленням при цьому тканинної гіпоксії [5]. Не слід забувати і те, що NO є джерелом пероксинітриту – вкрай агресивного радикала, який утворюється як у циркулюючій крові, так і в клітинних елементах судинної стінки, і викликає численні тканинні та клітинні пошкодження [21]. Враховуючи дані про нерівномірність експресії iNOS за умов гіпоксії [20], можна припустити, що блокада цієї синтетази при септичному шоку буде призводити до ще більш вираженої констрикції судин малого кола кровообігу. Крім того, нещодавно з'явилося категоричне застереження щодо клінічного застосування блокаторів NOS і вимога ретельного вивчення ролі NO у генезі септичного шоку [18].

Наведені факти і отримані нами результати свідчать про відсутність лікувального ефекту блокаторів NOS і гуанілатциклази. Швидко загибель тварин можна пояснити критичним збільшенням ступеня гіпоксемії та тканинної гіпоксії внаслідок прямої дії блокаторів NOS на судини малого кола кровообігу, коронарні судини та прекапілярні сфінктери. Крім того, введення блокатора гуанілатциклази метиленового синього інфікованим тваринам не попереджує розвиток порушень системного кровообігу і трансформує знижену дилаторну відповідь ізольованого судинного препарату на ацетилхолін у констрикторну реакцію, що може бути зумовлено посиленням констрикції прекапілярних сфінктерів при блокаді розчинної гуанілатциклази або наявністю в цьому випадку іншого, не цГМФ-залежного механізму дилаторної дії NO на гладенькі м'язи судин.

Таким чином, проведені дослідження показали, що введення з лікувальною метою неспецифічного та специфічного блокаторів NOS, а також речовини, що

гальмує активність гуанілатциклази, при даній моделі розвитку шоку є неефективним. Більше того, за деяких умов (повторне введення блокаторів NOS) це може потенціювати вже існуючі порушення кровообігу і прискорювати загибель експериментальних тварин.

A.S. Khromov, I.V. Ivanova, A.V. Stefanov

INHIBITION OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS DURING BACTERIAL SHOCK IN RODENTS DOES NOT PREVENT DEVELOPMENT OF RESISTANT (DECOMPENSATED) HYPOTENSION AND DEATH

The study subject was the white rat-males Wistar after intraperitoneal injection of the mixture of *St. aureus* and *B. pyocyaneus* daily cultures in the dose calculated as 1 milliard microbial organisms of each species per 100 g b.w., as well as the vascular preparations isolated from aortas of those rats. The aim is to study nitric oxide role in the development of resistant hypotension under generalization of the purulent infection. Infection of the animals with a mixture of gram-positive and gram-negative cultures led to the development of the pathological process, which can be considered as a septic (bacterial) shock. A primary lowering of the vascular tone caused by depression of the myocardial pump and contractile functions was observed. Injection of methylene blue or NOS blockers (L-NAME, S-methyl-thiourea) to the infected animals in the moment of hypotension development caused only a short-term rise in blood pressure. Survival rate in such animals was significantly lower compared to the control infected animals. Repeated injections of those agents hastened death of the experimental animals. The experiments *in vitro* revealed no dilatatory effect of acetylcholine with preserved sensitivity of the vascular preparations to adrenomimetics and exogenous nitric oxide in both control infected animals and animals injected with methylene blue or NOS blockers. The data obtained suggested that resistant hypertension in terminal stages of septic shock is nitric oxide-independent.

Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Брин В.Б., Зонис Б.Я. Физиология системного кровообращения. Формулы и расчеты. – Из-во Ростов. ун-та, 1984. – 88 с.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. школа, 1973. – 343 с.
3. Хромов О.С. Вплив ліпіну на зміни системного кровообігу у спонтанно-гіпертензивних щурів // Ліки. – 2000. – №3–4. – С. 30–36.
4. Хромов О.С., Соловйов А.І., Стефанов О.В. Моделирование эндотоксического та септического шоку

- у гризунів: Доклінічні дослідження лікарських засобів // За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С.503–515.
5. Avontuur J.A.M., Boomsma F., Van den Meiracker A.H. et al. Endothelin-1 and blood pressure after of nitric oxide synthesis in human septic shock // *Circulat.* – 1999. – **99**. – P.271–275.
6. Brady A.J. Nitric oxide, myocardial failure and septic shock (Review) // *Int. J. Cardiol.* – 1995. – **50**. – P.269–272.
7. Cochran J.B., Genovese F., Ogura S. et al. Effect of nitric oxide donors and nitric oxide synthase inhibitors in neonatal rat endotoxic shock // *Biochem. Pharmacol.* – 1999. – **58**. – P.687–691.
8. Davies M.G., Fulton G.J. Haden P. Clinical biology of nitric oxide // *Brit. J. Surg.* – 1995. – **82**. – P.1598–1610.
9. Gray G.A., Schott C., Julou-Schaeffer G. et al. An investigation of the effects of inhibitors of the L-arginine pathway on endotoxin-induced vascular hyperactivity *in vivo* // *Brit. J. Pharmacol.* – 1991. – **103**. – P.1218–1224.
10. Groeneveld A.B.J., Bronsveld W., Thijs L.G. Hemodynamic determinants of mortality in human septic shock // *Surgery.* – 1986. – **99**. – P.140–152.
11. Keaney J., Puynia J., Francis S. et al. Methylene blue reverses endotoxin induced hypotension // *Circulat. Res.* – 1994. – **74**. – P.1121–1125.
12. Kilbourne R.G., Gross S.S., Jubran A. et al. NG-Methyl-L-Arginine inhibits tumor necrosis factor-induced hypotension: implications for the involvement of nitric oxide // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1990. – **87**. – P.3629–3632.
13. Kubicek W., Patterson R., Witsce D. Impedance cardiography as a noninvasive method of monitoring cardiac function and other parameters of cardiovascular system // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1970. – **170**. – P.724–732.
14. Mitaka C., Hirata Y., IchiKawa T. et al. Effect of nitric oxide synthase inhibitor on hemodynamic change and O₂ delivery in septic dogs // *Amer. J. Physiol.* – 1995. – **2**, №5, Pt.2. – P.H2017–H2023.
15. Nava E., Salazar F.J. Comparative effects of nitric oxide synthesis inhibitor and catecholamine treatment in a rat model of endotoxin shock // *Eur. J. Clin. Invest.* – 1997. – **27**. – P.673–679.
16. Parker J.L., Myers P.R., Zhong I. Inhibition of endothelium-dependent vasodilatation by *Escherichia coli* endotoxin // *Shock.* – 1994. – **2**. – P.451–458.
17. Parrillo J.E. Pathogenesis of cardiovascular dysfunction in septic shock. – In: Update in intensive care and emergency medicine/ Ed. Vincent J.L. – Berlin–Heidenberg–New York: Springer, 1989. – **8**. – P.317–321.
18. Schoonover L.L., Stewart A.S., Clifton G.D. Hemodynamic and cardiovascular effects of nitric oxide modulation in the therapy of septic shock // *Pharmacotherapy.* – 2000. – **20**, №10. – P. 1184–1197.
19. Soloviev A., Stefanov A., Tishkin S., Khromov A. Saline containing phosphatidylcholine liposomes possess

- the ability to restore endothelial function damaged resulting from g-irradiation // J. Physiol. Pharmacol. – 2002. – **53**, №3. – P.74–81.
20. Szabo C., Cuzzocrea S., Zingarelli B. et al. Endothelial dysfunction in a rat model of endotoxic shock – Importance of the activation of poly (ADP-ribose) synthase by peroxynitrite // J. Clin. Invest. – 1997. – **100**. – P.723–773.
21. Szabo C., Salzman A.L., Ischiropoulos H. Endotoxin triggers the expression of an inducible isoform of nitric oxide synthase and the formation of peroxynitrite in the rat aorta in vivo // FEBS Lett. – 1995. – **363**. – P.235–238.
22. Veragut P., Krayenbuhl H. Estimation and quantification of myocardial contractility in the closed- chest dogs // Cardiologia. – 1965. – **47**. – P.96–112.
23. Wu C.C., Szabo C., Chen S.J. et al. Activation of soluble guanylyl cyclase by a factor other than nitric oxide or carbon monoxide contributes to the vascular hyporeactivity to vasoconstrictors agents in the aorta of rats treated with endotoxin // Biochem. and Biophys. Res. Commun. – 1994. – **201**. – P.436–442.

*Ин-т фармакології та токсикології АМН України,
Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 20.05.2004*