

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ОТРАВЛЕНИЙ

ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ NO-СИНТАЗЫ, ПРОИЗВОДНЫХ L-АРГИНИНА, ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ОТЕКА ЛЕГКИХ

П. А. Торкунов, П. Д. Шабанов¹

Исследовали профилактическое и лечебное действие ингибиторов NO-синтазы при токсическом отеке легких у мышей, вызванном фосгеном (LCt₅₀₋₈₄). Наибольшей эффективностью для уменьшения отека легких обладают аминоксидин, N^G-нитро-L-аргинин (L-NNA) и метиловый эфир L-нитроаргинина (L-NAME), причем аминоксидин проявляет свое противоотечное действие как при профилактическом, так и лечебном воздействии. Ингибитор конститутивной изоформы L-NNA эффективен при профилактическом применении, а ингибитор индуцибельной и конститутивной изоформы L-NAME — при лечебном.

Ключевые слова: NO-синтаза, аминоксидин, L-NNA, L-NAME, токсический отек легких, фосген, противоотечная активность

ВВЕДЕНИЕ

Исследованиями последних лет показано, что в регуляции физиологических функций, включая регуляцию сосудистого тонуса, агрегацию тромбоцитов, механизмы клеточной защиты, участвует окись азота [2, 3]. Интерес к окиси азота обусловлен также его возможным участием в формировании различных патологических состояний организма. Показано, что гиперактивация нитрооксидсинтазы имеет место при ряде патологических процессов [2, 4, 5], в том числе при отеке легких, вызванном различными токсикантами, — тиомочевинной, окислами азота, фосгеном [5, 6].

Биосинтез окиси азота в организме происходит путем превращений L-аргинина под влиянием специфического фермента нитрооксидсинтазы (NOS, NO-синтазы). Одним из механизмов блокирования NO-синтазы является ее конкурентное ингибирование эфирами L-аргинина. При этом возможно более или менее специфичное торможение активности отдельных изоформ фермента. Так, метиловый эфир L-нитроаргинина (L-NAME) и L-монометиларгинин (L-NMMA) блокируют конститутивную и индуцибельную изоформы фермента, N^G-нитро-L-аргинин (L-NNA) — преимущественно конститутивную изоформу, N^G-амино-L-аргинин и аминоксидин — индуцибельную изоформу, а 6-нитроиндазол — изоформу фермента, синтезирующуюся в нейронах и скелетных мышцах [5, 7].

Целью настоящего исследования явилось изучение фармакологической активности ингибиторов NO-син-

тазы на модели токсического отека легких, вызванного фосгеном, у мышей.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 144 белых беспородных мышцах-самцах массой 18 – 24 г. Токсический отек легких моделировали путем ингаляции фосгена в специальной камере. Фосген использовали в дозе 4,2 мг · мин/л, что соответствовало LCt₅₀₋₈₄. Умерщвление животных осуществляли через 3 и 24 ч после отравления. Оценивали выживаемость животных (в процентах) и легочный коэффициент (ЛК), по которому судили о выраженности отека легких. ЛК вычисляли по формуле:

$$\text{ЛК} = \text{масса легких} / \text{масса животного} \cdot 1000.$$

В опытах использовали ингибиторы — конститутивной и индуцибельной изоформ NO-синтазы L-NAME, конститутивной изоформы L-NNA, нейрональной изоформы 6-нитроиндазол, индуцибельной изоформы аминоксидин. Соединения вводили внутривентриально (50 мг/кг) однократно за 30 мин до отравления (профилактическое применение) и через 10 мин после проведения сеанса затравки животных (лечебное применение). Доза веществ была выбрана как оптимальная для данных видов исследований на основании собственных экспериментальных и литературных данных [5, 7]. В качестве препарата сравнения использовали агонист NO-синтазы L-аргинин.

Для статистической обработки полученных данных, представленных в виде $M \pm t$, использовали *t*-критерий Стьюдента. Обработку результатов, представленных в относительных единицах, осуществляли с использованием таблиц В. С. Генеса, основанных на точном методе Фишера для четырехпольной таблицы [1].

¹ Кафедра фармакологии (зав. — проф. П. Д. Шабанов) Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, 194044, ул. Акад. Лебедева, 6; e-mail: shabanov@mail.rcom.ru

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что лечебное применение L-NAME, L-NNA и амингуанидина позволяют достоверно снизить ЛК животных через 24 ч после отравления (ЛК $12,9 \pm 1,5$; $14,1 \pm 0,2$ и $12,3 \pm 0,5$ усл. ед. соответственно по сравнению с $17,7 \pm 1,8$ усл. ед. у отравленных животных). При профилактическом введении L-NNA и амингуанидина наблюдали достоверное уменьшение ЛК отравленных животных до $10,8 \pm 0,9$ и $12,8 \pm 0,8$ усл. ед. соответственно по сравнению с $17,7 \pm 1,8$ усл. ед. в группе отравленных животных (таблица). Применение препарата сравнения L-аргинина не сопровождалось значимыми изменениями легочного коэффициента у отравленных животных.

Полученные данные позволяют заключить, что из всех исследованных ингибиторов NO-синтазы только амингуанидин и L-NNA способствовали снижению легочного отека у отравленных животных, как при профилактическом, так и при лечебном применении. Однако у животных, получивших L-NNA с лечебной целью, отмечалось повышение ЛК через 3 ч после отравления, что не может считаться положительным действием соединения. Эффективным оказалось лечебное введение L-NAME, но только через 24 ч после экспозиции фосгена, что сопровождалось снижением легочного отека отравленных животных. Следовательно, положительный эффект при токсическом отеке легких, вызванном фосгеном, достигался применением ингибиторов обеих изоформ фермента. Однако наибольшей эффективностью сопровождалось блокирование индуцибельной изоформы фермента.

Таким образом, из числа ингибиторов NO-синтазы эффективными для уменьшения токсического отека легких, вызванного фосгеном, при профилактическом применении оказались ингибитор индуцибельной изоформы амингуанидин и ингибитор конститутивной изоформы L-NNA, а при лечебном применении — ингибитор индуцибельной изоформы амингуанидин и ингибитор индуцибельной и конститутивной изоформы L-NAME. Их использование позволяет уменьшать выраженность отека легких.

Следует отметить, что наибольший противоотечный эффект проявлял амингуанидин, который тормозит активность преимущественно индуцибельной изоформы NO-синтазы. По-видимому, для лечебного эффекта в большей степени важна именно эта изоформа фермента, которая обеспечивает быструю приспособляемость организма к меняющимся условиям среды, в том числе и действию токсикантов [7]. Конститутивная изоформа NO-синтазы, как показано и для других ферментов и белков, ответственна за более длительные перестройки организма (адаптацию). Поэтому в наших исследованиях ингибитор конститутивной изоформы L-NNA проявлял умеренную противоотечную активность, но только при профилактическом введении.

Эффективность применения производных L-аргинина при токсическом отеке легких у мышей, вызванном фосгеном ($M \pm m$, $n = 10$)

Группа животных, доза (мг/кг)	Легочный коэффициент, усл. ед.	
	3 ч	24 ч
Интактные	7,0 ± 0,2	
Контроль, фосген 5 мг · мин/л	7,5 ± 0,2	17,7 ± 1,8
L-аргинин 50 мг/кг, профилактика	8,0 ± 0,4	20,2 ± 1,3
L-аргинин 50 мг/кг, лечение	8,0 ± 0,7	15,1 ± 0,4
L-NAME 50 мг/кг, профилактика	7,5 ± 0,1	14,2 ± 2,6
L-NAME 50 мг/кг, лечение	7,2 ± 0,4	12,9 ± 1,5*
L-NNA 50 мг/кг, профилактика	7,2 ± 0,2	10,8 ± 0,9*
L-NNA 50 мг/кг, лечение	8,8 ± 0,5	14,1 ± 0,2*
6-нитроиндазол 50 мг/кг, профилактика	7,5 ± 0,4	13,7 ± 1,5
6-нитроиндазол 50 мг/кг, лечение	7,9 ± 0,6	17,3 ± 0,7
Амингуанидин 50 мг/кг, профилактика	7,6 ± 0,9	12,8 ± 0,8*
Амингуанидин 50 мг/кг, лечение	8,1 ± 0,4	12,3 ± 0,5*

Примечание. * — $p \leq 0,05$ в сравнении с контрольными животными.

Представленные данные еще раз подчеркивают, что противоотечное действие лекарственных средств при токсическом отеке легких во многом неспецифично, при этом данным видом фармакологической активности обладают препараты из разных фармакологических групп: ингибиторы сериновых и аспартильных протеаз (бензилсульфохлорид, N-этилмалеинимид), ингибиторы NO-синтазы (соли дифенилиодиния, амингуанидин, L-NAME, L-NNA), стероидные (глюкокортикоиды) и нестероидные (диклофенак натрия) противовоспалительные средства, антигипоксанты (производные тиомочевины и индола) серусодержащие антиоксиданты (унитиол, тиосульфат натрия), а также многочисленные их комбинации [5, 7].

ВЫВОДЫ

1. Для уменьшения токсического отека легких, вызванного фосгеном, наиболее эффективны амингуанидин, L-NNA и L-NAME. Амингуанидин проявляет противоотечное действие как при профилактическом, так и лечебном воздействии.

2. Ингибитор конститутивной изоформы L-NNA эффективен при профилактическом применении, а ингибитор индуцибельной и конститутивной изоформы L-NAME — при лечебном применении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. В. Гублер, А. А. Генкин, *Применение критериев непараметрической статистики в медико-биологических исследованиях*, Ленинград (1965).
2. П. А. Мотавкин, Б. И. Гельцер, *Клиническая и экспериментальная патофизиология легких*, Наука, Москва (1998).

3. Л. Р. Одыванова, А. А. Сосунов, Я. Гатчев, Д. Ж. Цервос-Наварро, *Усп. совр. биол.*, **117**(3), 374 – 389 (1997).
4. П. А. Торкунов, *Психофармакол. и биол. наркол.*, **7**(1), 1448 – 1452 (2007).
5. П. А. Торкунов, *Автореф. дис. д-ра мед. наук*, ВМедА, Санкт-Петербург (2007).
6. П. А. Торкунов, А. В. Земляной, П. Д. Шабанов, *Психофармакол. и биол. наркол.*, **7**(1), 1453 – 1458 (2007).
7. П. А. Торкунов, П. Д. Шабанов, *Патогенез токсического отека легких*, Элби-СПб, Санкт-Петербург (2007).

Поступила 28.01.08

USING NO-SYNTASE INHIBITORS DERIVED FROM L-ARGININE FOR PREVENTING ACUTE EXPERIMENTAL LUNG EDEMA DEVELOPMENT IN MICE

P. A. Torkunov and P. D. Shabanov

Department of Pharmacology, Military Medical Academy, ul. Akademika Lebedeva 6, St. Petersburg, 194044, Russia

The preventive and curative action of NO-synthase inhibitors derived from L-arginine was investigated on the model of toxic lung edema induced by phosgene (LCt50 – 84) in mice. The most pronounced decrease in the phosgene-induced lung edema was observed for aminoguanidine, NG-nitro-L-arginine (L-NNA), and L-nitroarginine methyl ester (L-NAME). Aminoguanidine was effective in cases of both preventive and curative administration. L-NNA, an inhibitor of the constitutive isoform of NO-synthase, was effective only after preventive injection, while L-NAME, an inhibitor of both inducible and constitutive isoforms of NO-synthase, was effective only after curative use. Therefore, the NO-synthase inhibitors are a promising group of pharmacological agents for the treatment of toxic lung edema induced by phosgene.

Key words: NO-synthase, aminoguanidine, L-NNA, L-NAME, toxic lung edema, phosgene, antiedematic activity