

УДК 616.5-092.9:615.916'175
© 2009

*Оренчук Е.П., соискатель**,

ВГУЗУ “Украинская медицинская стоматологическая академия”

ВЛИЯНИЕ ИЗБЫТОЧНОГО ПОСТУПЛЕНИЯ В ОРГАНИЗМ НИТРАТА НАТРИЯ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ КОЖИ ДЛЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ВЕЩЕСТВ

Рецензент – кандидат сельскохозяйственных наук М.В. Денисенко

В експерименті на 20 білих щурах виявлено, що пригнічення пітніння не супроводжується підвищенням проникності шкіри подушечок лапок, що містять потові залози, для адреналіну в інтактних тварин і призводить до прогресуючого збільшення проникнення адреналіну в тварин із надлишковим навантаженням нітратом натрію, що свідчить про активацію за цих умов трансгландулярного шляху проникнення водорозчинних речовин.

Ключевые слова: трансгландулярная проницаемость кожи, оксид азота, нитрат натрия.

Известно, что типовой механизм действия на организм нитратов и нитритов связан с их биотрансформацией до оксида азота (NO) [1, 6]. В коже NO играет важную роль в поддержании ее барьерно-защитных функций и обеспечении нормального кровотока в микроциркуляторном русле, опосредует процесс ацетилхолин-индуцированной вазодилатации, обеспечивает норадренэргическую трансмиссию и электрическую проводимость в точках с низким сопротивлением (точках акупунктуры) [7-8].

Выявление протективных эффектов оксида азота в отношении кожи вылилось в создание различных NO-содержащих мазей, кремов, гелей и других лекарственных форм и косметических средств [12]. Отмечается способность NO-содержащего газового потока ускорять заживление кожных дефектов [9].

В то же время оксид азота известен как мощный повреждающий агент, проявляющий прооксидантные и апоптотические свойства, угнетающий биоэнергетические и репаративные процессы [1, 6].

В настоящее время практически отсутствуют работы, освещающие изменения функциональных и метаболических процессов в коже млекопитающих при избыточном образовании оксида

азота из экзогенных предшественников. Одним из таких источников являются нитраты, относящиеся к числу основных экологических загрязнителей как в аграрных, так и в промышленных регионах.

Целью данной работы было исследование влияния образования избыточного количества оксида азота из экзогенного предшественника (модель хронической интоксикации нитратом натрия) на проницаемость кожи белых крыс для водорастворимых веществ.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 20 белых крысах линии Вистар массой 130-160 г. Проведено четыре серии опытов: в первой серии необходимые показатели изучали в интактных животных (контрольная серия); во второй, третьей и четвертой сериях животным вводили нитрат натрия в течение, соответственно, двух недель, одного и трех месяцев. Нитрат натрия вводили животным интрагастрально в дозе 200 мг/кг массы тела в виде водного раствора. Использование этой методики разрешает воссоздать избыточное образование NO и депонирование его в виде парамагнитных комплексов с гемовым и негемовым железом [1].

Моделью для изучения трансгландулярной проницаемости кожи служила кожа подошвенных участков передних и задних лапок крыс, что связано с наличием на подушечках лапок у грызунов потовых желез, отсутствующих на коже туловища [4]. Методика пробы заключалась в том, что на кожу подушечек всех лапок белых крыс наносили каплю 1% раствора адреналина, приготовленного ex tempore [5]. В наших исследованиях определялась продолжительность времени от начала поступления раствора в выводные протоки потовых желез до появления мраморно-бледных участков кожи.

* *Руководители – заведующий экспериментальной биологической клиникой, кандидат сельскохозяйственных наук, доктор философии по специальности «физиология человека и животных» старший научный сотрудник М.В. Денисенко, доктор медицинских наук, профессор В.А. Костенко*

Результаты пробы расценивали как отрицательные (–) при отсутствии побледнения кожи; слабоположительные (+) – при появлении побледнения кожи в виде отдельных белых точек; положительные (++) – при слиянии точек побледнения и образовании узловой сетки; резко положительные (+++) – при образовании сплошного пятна, близкого по размеру к помещенной на кожу капле.

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием критерия χ^2 и критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение.

Нанесение 1% раствора адреналина на кожу спины и подушечек всех лапок белых крыс (без активации механизмов постперспириационной проницаемости кожного покрова для водных растворов веществ) во всех сериях экспериментов не сопровождалось сужением сосудов. Визуально исследуемые участки кожи не изменялись. Это свидетельствует о том, что как у интактных животных, так и при введении нитрата натрия в изучаемые сроки транскорнеальное проникновение водорастворимых веществ отсутствует.

Для активации трансгландулярного пути проникновения водорастворимых веществ лапки жи-

вотных помещали в термокамеру с температурой 55-65°C (на 3 мин), затем резко захлаживали до температуры 25-30°C (в течение 2 мин), после чего вновь подвергали тепловому воздействию при температуре 55-65°C (3 мин) с последующим захлаживанием до температуры 25-30°C (на 2 мин) [3].

Выявлено, что при исследовании интактных животных все адреналиновые пробы на подушечках правых лапок дают отрицательный результат (табл. 1), что указывает на отсутствие проницаемости кожного барьера для водорастворимых веществ.

На 14-ые сутки после начала введения нитрата натрия на коже 60% подушечек правых лапок результаты адреналиновой пробы были слабо положительными (+). На 30-ые сутки хронической интоксикации нитратом натрия результаты адреналиновой пробы были слабо положительными (+) на коже 70% и положительными (++) – 30% подушечек правых лапок. На 90-ые сутки после начала введения нитрата натрия результаты адреналиновой пробы были слабо положительными (+) на коже 20%, положительными (++) – 70% и резко положительными (+++) – 10% подушечек правых лапок.

1. Оценка пробы на проницаемость кожи правых лапок белых крыс (нанесение 1% раствора адреналина) в условиях избыточного поступления в организм нитрата натрия, абс. к-во проб и %

Характер пробы	Контроль	Время введения нитрата натрия		
		2 нед.	1 мес.	3 мес.
Отрицательная (–)	10 (100%)	4 (40%)		
Слабо положительная (+)		6 (60%)	7 (70%)	2 (20%)
Положительная (++)			3 (30%)	7 (70%)
Резко положительная (+++)				1 (10%)
χ^2		17,00	92,00	91,00
P		<0,001	<0,001	<0,001

Примечание: здесь и в табл. 3 критерий χ^2 и вероятность ошибки P рассчитывали при сравнении результатов с данными контрольной серии.

2. Время выявления побледнения кожи подушечек правых лапок белых крыс после 30- и 90-дневного избыточного поступления в организм нитрата натрия (M±m, n=20), с

Время введения нитрата натрия	Время наступления побледнения кожи, с	
	Правая передняя лапка	Правая задняя лапка
30 суток	30,8±4,6	331,2±3,8*
90 суток	282,8±1,9**	294,4±3,0*/**

Примечание: * – P<0,05 при сравнении результатов исследования кожи подушечки задних лапок с данными, полученными при исследовании передних; ** – P<0,05 при сравнении результатов на 90-ые сутки интоксикации с данными, полученными на 30-ые сутки после начала введения нитрата натрия.

На 30-ые сутки хронической интоксикации нитратом натрия были выявлены различия в скорости развития побледнения кожи при положительных результатах (+, ++, +++) адреналиновой пробы на подушечках правых передних и задних лапок (табл. 2). На подушечках правых передних лапок побледнение развивается через $302,8 \pm 4,6$ с, а на подушечках правых задних лапок – $331,2 \pm 3,8$ с (на 9,1% позднее, $P < 0,001$).

На 90-ые сутки после начала введения нитрата натрия на подушечках правых передних лапок побледнение развивается через $282,8 \pm 1,9$ с, на подушечках правых задних лапок – $294,4 \pm 3,0$ с (на 4.1% позднее, $P < 0,01$). Эти данные свидетельствуют о наличии передне-задней асимметрии показателей скорости проникновения водорастворимых веществ через кожный барьер. Это, по-видимому, может быть связано с различным числом потовых желез на подушечках левых и правых лапок, что проявляется в период наибольшей активации их функциональной активности.

Таким образом, регулирующее действие высоких концентраций NO направлено на активацию процесса потоотделения, который предшествует трансгландулярному переносу водорастворимых веществ через кожу.

Выявленное нами в динамике хронической интоксикации нитратом натрия усиление трансгландулярного пути проникновения водорастворимых веществ не в полной мере согласуется с полученными нами ранее данными о развитии биоэнергетической недостаточности в тканях кожи (выявлено снижение концентрации АТФ и энергетического потенциала) [2]. Известно, что потоотделение – неперемная фаза, предшествующая реабсорбции воды и растворенных в ней веществ [5] – является АТФ-зависимым процессом (АТФ необходим в данном случае и как макроэрг, и как регуляторный фактор) [10].

Однако, данные литературы подчеркивают, что NO играет важную роль в регуляции процесса экскреции пота эккринными железами. Так, у больных с гипергидрозом (усиленной потливостью) уровень NO в плазме крови существенно выше, чем у здоровых лиц [11]. NO и АФК способны непосредственно активировать как центральный, так и периферический компоненты симпатического отдела нервной системы, регулирующие потоотделение.

В динамике интоксикации отмечается ускорение появления побледнения в ходе адреналиновой пробы. Так, на 90-ые сутки после начала введения нитрата натрия на подушечках правых передних лапок побледнение развивается на 6,6% ($P < 0,01$) ранее, чем на 30-ые сутки интоксикации. На подушечках правых задних лапок побледнение развивается на 11,1% ($P < 0,001$) ранее, чем на 30-ые сутки интоксикации.

При оценке адреналиновых проб на подушечках левых лапок у интактных животных также отмечается отрицательный результат (табл. 3), что подтверждает отсутствие проницаемости кожи для водорастворимых веществ.

На 14-ые сутки после начала введения нитрата натрия на коже 40% подушечек левых лапок результаты адреналиновой пробы были слабо положительными (+). На 30-ые сутки хронической интоксикации нитратом натрия результаты адреналиновой пробы были слабо положительными (+) на коже 60% и положительными (++) – 40% подушечек левых лапок. На 90-ые сутки после начала введения нитрата натрия результаты адреналиновой пробы были слабо положительными (+) на коже 20%, положительными (++) – 80% подушечек левых лапок.

Приведенные данные существенно не отличаются от результатов постановки адреналиновой пробы на подушечках правых лапок.

3. Оценка пробы на проницаемость кожи левых лапок белых крыс (нанесение 1% раствора адреналина) в условиях избыточного поступления в организм нитрата натрия, абс. к-во проб и %

Характер пробы	Контроль	Время введения нитрата натрия		
		2 нед.	1 мес.	3 мес.
Отрицательная (-)	10 (100%)	6 (60%)		
Слабо положительная (+)		4 (40%)	6 (60%)	2 (20%)
Положительная (++)			4 (40%)	8 (80%)
Резко положительная (+++)				
χ^2		8,67	92,00	92,00
P		<0,05	<0,001	<0,001

4. Время выявления побледнения кожи подушечек левых лапок белых крыс после 30- и 90-дневного избыточного поступления в организм нитрата натрия (M+t, n=20), с

Время введения нитрата натрия	Время наступления побледнения кожи, с	
	Левая передняя лапка	Левая задняя лапка
30 суток	305,6±5,2	324,9±4,2*
90 суток	286,4±2,6**	296,8±3,3*/**

Примечание: * – $P < 0,05$ при сравнении результатов исследования кожи подушечки задних лапок с данными, полученными при исследовании передних; ** – $P < 0,05$ при сравнении результатов на 90-ые сутки интоксикации с данными, полученными на 30-ые сутки после начала введения нитрата натрия; *** – $P < 0,05$ при сравнении результатов с данными, полученными в те же сроки интоксикации на контрлатеральной лапке.

На 30-ые сутки хронической интоксикации нитратом натрия также выявлены различия в скорости развития побледнения кожи при положительных результатах (+, ++, +++) адреналиновой пробы на подушечках левых передних и задних лапок (табл. 4). На подушечках левых передних лапок побледнение развивается через $305,6 \pm 5,2$ с, а на подушечках левых задних лапок – $324,9 \pm 4,2$ с (на 6,3 % позднее, $P < 0,02$).

На 90-ые сутки после начала введения нитрата натрия на подушечках левых передних лапок побледнение отмечается через $286,4 \pm 2,6$ с, на подушечках левых задних лапок – $296,8 \pm 3,3$ с (на 3,6% позднее, $P < 0,05$). Эти данные подтверждают наличие передне-задней асимметрии показателей скорости проникновения водорастворимых веществ через кожный барьер в динамике хронической интоксикации нитратом натрия.

Время обнаружения побледнения кожи при адреналиновой пробе на подушечках левых лапок также заметно сокращается при 90-дневной интоксикации, по сравнению с данными на 30-ые сутки:

на подушечках правых передних лапок – на 6,3% ($P < 0,01$) ранее, правых задних лапок – на 8,6% ($P < 0,001$) ранее.

Выводы

Таким образом, в ходе исследования кожи подушечек лапок белых крыс, содержащей потовые железы, выявлено, что торможение потоотделения не сопровождается повышением проницаемости кожи для адреналина у интактных животных и приводит к прогрессирующему увеличению проникновения адреналина у животных с избыточной нагрузкой нитратом натрия, что свидетельствует об активации в этих условиях трансгландулярного пути проникновения водорастворимых веществ. На 30-ые и 90-ые сутки хронической интоксикации нитратом натрия выявлена передне-задняя асимметрия скорости проникновения водорастворимых веществ через кожный барьер, что выявляется в достоверно более быстром трансгландулярном проникновении адреналина в коже подушечек передних лапок (по сравнению с задними).

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Костенко В.О. Механізми порушення окисних процесів у тканинах при надлишковому утворенні оксиду азоту з екзогенних попередників / Костенко В.О., Костенко А.Г., Денисенко С.В. [та ін.] // Клін. та експ. патол. – 2004. – Т.3, № 2 (Ч.1). – С.202-204.
2. Оренчук Е.П. Окислительные процессы в коже в условиях длительного поступления нитрата натрия в организм белых крыс / Оренчук Е.П., Костенко В.А. // Світ медицини та біології. – 2008. – №3. – С.78-81.
3. Пат. 2191558 Российская Федерация. Способ лечения облысения и устройство для его осуществления / Педдер В.В., Педдер А.В., Шкуро Ю.В.; заявитель и патентообладатель Педдер Валерий Викторович. – заявл. 17.09.98; опубл. 01.04.07.

4. Руководство по изучению кожного покрова млекопитающих / [В.Е. Соколов, Л.Н. Скурат, Л.В. Степанова и др.]; под ред. В.Е. Соколова, Р.П. Женевской. – М.: Наука, 1988. – 279 с.
5. Слынько П.П. Потоотделение и проницаемость кожи человека / Слынько П.П. – К.: Наукова думка, 1973. – 255 с.
6. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / [Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е. и др.]. – М.: Наука, 1998. – 159 с.
7. Bruch-Gerharz D. Nitric oxide in human skin: current status and future prospects / Bruch-Gerharz D., Ruzicka T., Kolb-Bachofen V. // J. Invest. Dermatol. – 1998. – V.110, №1. – P.1-7.
8. Chen J.X. Effects of nitric oxide and noradrenergic function on skin electric resistance of acupoints

and meridians / Chen J.X., Ma S.X. // J. Altern. Complement. Med. – 2005. – V.11, №3. – P.423-431.

9. Ghaffari A. Potential application of gaseous nitric oxide as a topical antimicrobial agent / Ghaffari A., Miller C.C., McMullin B., Ghahary A. // Nitric Oxide. – 2006. – V.14, №1. – P.21-29.

10. Granger D. V-type H⁺-ATPase in the human eccrine sweat duct: immunolocalization and functional demonstration / Granger D., Marsolais M., Burry J., Laprade R. // Am. J. Physiol. Cell Physiol.

– 2002. – V.282, №6. – P.C1454-C1460.

11. Karaca S. Is nitric oxide involved in the pathophysiology of essential hyperhidrosis? / Karaca S., Kulac M., Uz E. [et al.] // Int. J. Dermatol. – 2007. – V.46, №10. – P.1027-1030.

12. Seabra A.B. Topically applied S-nitrosothiol-containing hydrogels as experimental and pharmacological nitric oxide donors in human skin / Seabra A.B., Fitzpatrick A., Paul J. [et al.] // Br. J. Dermatol. – 2004. – V.151. – P.977-983.