

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
“ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО”

НА ПРАВАХ РУКОПISУ

ЧЕРНУХІНА ОЛЕНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 615.272.4–06:616.36+616.61]–02:616.379–008.64

ВПЛИВ ПОПЕРЕДНИКІВ ТА БЛОКАТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА
ПАТОГЕНЕТИЧНІ ЛАНКИ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ПРИ
ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

(експериментальне дослідження)

14.03.04 – ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ

ДИСЕРТАЦІЯ

на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник
Швед Микола Іванович
Заслужений діяч
науки і техніки України,
доктор медичних наук, професор

Тернопіль – 2011

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	6
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1 РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ У ПАТОГЕНЕЗИ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА ЙОГО УСКЛАДНЕНЬ (огляд літератури)	15
1.1 Роль порушень системи L-аргінін – оксид азоту у патогенезі ендотеліальної дисфункції при цукровому діабеті	15
1.2 Роль порушень системи L-аргінін – NO у патогенезі ураження печінки та нирок при цукровому діабеті та результати їх фармакологічної корекції	26
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	40
2.1 Відбір і групування тварин для дослідження	40
2.2 Визначення активності процесів пероксидного окиснення ліпідів	43
2.3 Дослідження стану антиоксидантної системи	45
2.4 Методи визначення окиснювальних процесів у мітохондріях	47
2.5 Визначення вмісту білка у внутрішніх органах	49
2.6 Визначення вмісту нітрит-аніону (NO ₂ ⁻)	49
2.7 Визначення вмісту глюкози	50
2.8 Визначення вмісту глікозильованого гемоглобіну	50
2.9 Визначення вмісту сечовини	51
2.10 Визначення вмісту креатиніну	51
2.11 Визначення активності амінотрансфераз	52
2.12 Визначення активності лужної фосфатази	54
2.13 Тимолова проба	54

2.14 Вивчення динаміки маси тіла тварин	55
2.15 Морфологічні дослідження	55
2.16 Статистичний аналіз результатів досліджень	56
РОЗДІЛ 3 ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ	57
3.1 Динаміка маси тіла тварин та біохімічні показники у крові при стрептозотоциновому діабеті	57
3.2 Особливості ураження печінки при стрептозотоциновому діабеті	
3.3 Особливості ураження нирок при стрептозотоциновому діабеті	
РОЗДІЛ 4 ВПЛИВ ПОПЕРЕДНИКІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ ПРИ ЇХ ЗАСТОСУВАННІ ПРОТЯГОМ 14 ДІБ НА ПАТОГЕНЕТИЧНІ ЛАНКИ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТІ	69
4.1 Вплив L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на динаміку маси тіла тварин та біохімічні показники у крові при стрептозотоциновому діабеті	69
4.2 Вплив L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на патогенетичні ланки ураження печінки при стрептозотоциновому діабеті	74
4.3 Вплив L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на патогенетичні ланки ураження нирок при стрептозотоциновому діабеті	78

РОЗДІЛ 5 ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ NO-СИНТАЗИ ПРИ ЇХ ЗАСТОСУВАННІ ПРОТЯГОМ 14 ДІБ НА ПАТОГЕНЕТИЧНІ ЛАНКИ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТІ	83
5.1 Вплив N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на динаміку маси тіла тварин та біохімічні показники у крові при стрептозотоциновому діабеті	84
5.2 Вплив N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на патогенетичні ланки ураження печінки при стрептозотоциновому діабеті	87
5.3 Вплив N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на патогенетичні ланки ураження нирок при стрептозотоциновому діабеті	92
РОЗДІЛ 6 ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ L-АРГІНІНУ-L-ГЛУТАМАТУ ТА АМІНОГУАНІДИНУ НА ПАТОГЕНЕЗ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТІ У ВИПАДКУ ЇХ ОКРЕМОГО ВВЕДЕННЯ ПРОТЯГОМ 4 ТИЖНІВ ТА ПРИ ЇХ КОМБІНОВАНОМУ ЗАСТОСУВАННІ ПРОТЯГОМ 2 ТИЖНІВ	100
6.1 Особливості впливу попередника та блокатора синтезу оксиду азоту при їх окремому застосуванні протягом 4 тижнів експерименту на стан печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті	100
6.1.1 Вплив L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 4 тижнів експерименту на динаміку маси тіла тварин та біохімічні	101

показники у крові при стрептозотоциновому діабеті	
6.1.2 Особливості впливу L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 4 тижнів експерименту на стан печінки при стрептозотоциновому діабеті	104
6.1.3 Особливості впливу L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 4 тижнів експерименту на стан нирок при стрептозотоциновому діабеті	107
6.2 Особливості впливу попередника та блокатора синтезу NO при їх комбінованому введенні протягом 14 діб експерименту на стан печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті	110
6.2.1 Особливості впливу L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину у випадку їх комбінованого призначення протягом 2 тижнів експерименту на динаміку маси тіла тварин та біохімічні показники у крові при стрептозотоциновому діабеті	111
6.2.2 Особливості гепатопротекторної дії L-аргініну-L-глутамату при стрептозотоциновому діабеті при його комбінованому застосуванні з аміногуанідином протягом 2 тижнів експерименту	115
6.2.3 Особливості нефропротекторної дії L-аргініну-L-глутамату при стрептозотоциновому діабеті при його комбінованому застосуванні з аміногуанідином протягом 2 тижнів експерименту	118
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	123
ВИСНОВКИ	140
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	143
ДОДАТКИ	175

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ
І ТЕРМІНІВ

АДМА - асиметричний диметиларгінін
АлАТ – аланінамінотрансфераза
АсАТ – аспартатамінотрансфераза
ГПЛ – гідропероксили ліпідів
Кат – каталаза
ЛФ – лужна фосфатаза
МДА – малоновий діальдегід
ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів
СДГ – сукцинатдегідрогеназа
СОД – супероксиддисмутаза
ТБК – тіобарбітурова кислота
ТБП – ТБК-активні продукти
ЦД – цукровий діабет
ЦХО – цитохромоксидаза
AGEs – кінцеві продукти глікозилювання
AG – аміногуанідин
GSH – відновлений глутатіон
HbA1C – глікозилюваний гемоглобін
NNLA – N-нітро-L-аргінін
NO – оксид азоту
NO₂⁻ – нітрит-аніон
NOS – NO-синтаза
SH-групи – сульфгідрильні групи
STZ – стрептозотоцин

ВСТУП

Стрімке зростання захворюваності на цукровий діабет (ЦД), за визначенням ВООЗ, набуло характеру неінфекційної епідемії XXI століття [19, 35]. Розповсюдженість, хронічний пожиттєвий перебіг, рання інвалідизація, високий рівень смертності – все це ставить ЦД в один ряд з такими катастрофічними недугами, як СНІД та онкологічні захворювання [56]. В Україні зареєстровано майже 1 млн. хворих на ЦД (близько 2 % всього населення), хоча епідеміологічними дослідженнями доведено, що в реальності кількість таких хворих є у 2-3 рази більшою. Макро- та мікроангіопатії, характерні для даного захворювання, призводять до істотного порушення функціонування внутрішніх органів, виникнення різноманітних ускладнень і нерідко стають причиною смерті пацієнтів [20]. Зокрема, частота розвитку діабетичної нефропатії коливається від 40 % до 50 % у хворих на діабет 1 типу та від 15 % до 30 % – на діабет 2 типу, причому саме це ускладнення є однією з головних причин смерті хворих на ЦД 1 типу [32, 126], а при ЦД 2 типу від уремії помирає до 8 % пацієнтів [1]. Встановлено також, що ризик серцево-судинних катастроф, як провідної причини смертності хворих на ЦД, зростає при ураженні нирок [25, 97]. Тому ефективне попередження та сповільнення прогресування ураження нирок при цукровому діабеті напряму зв'язане з покращанням якості життя хворих та зменшенням рівня їх смертності [96, 271].

Поширеність уражень печінки при ЦД також значна: діабетичні гепатопатії зустрічаються у 24-88 % хворих [53, 58]. Незважаючи на те, що вони відзначаються субклінічним перебігом і лише у 4-7,5 % пацієнтів проявляються типовими для уражень печінки скаргами, встановлено, що при ускладненні ЦД гепатопатією спостерігаються більш глибокі метаболічні розлади, порівняно з групою хворих, в яких вона відсутня. Також доведено, що ураження печінки є незалежним предиктором кардіо-васкулярних ускладнень у хворих на ЦД 2 типу, незалежно від наявності класичних факторів ризику [225, 252]. Більше

того, між формуванням діабетичної гепатопатії та тяжкістю перебігу ЦД існує взаємообтяжуючий зв'язок з утворенням хибного кола і лише включення до технології лікування ЦД ефективної гепатотропної терапії здатне розірвати ланцюг цих патологічних змін [40].

Макро- та мікроангіопатії при цукровому діабеті, як відомо, значною мірою пов'язані з ендотеліальною дисфункцією [20]. Однією з вазоактивних сполук, яка виробляється в організмі з амінокислоти L-аргініну під впливом ферменту NO-синтази, є оксид азоту (NO). Встановлено участь цієї сполуки у патогенезі цукрового діабету та його ускладнень [254, 272].

Актуальність теми. Незважаючи на те, що в останнє десятиліття спостерігається збільшення кількості експериментальних та клінічних досліджень ролі системи L-аргінін–NO у розвитку макро- та мікроангіопатій при ЦД [122, 178, 182, 269] та відомостей про позитивний вплив прекурсора NO L-аргініну на порушення, які спостерігаються при ЦД [155, 192, 200], кількість спостережень, які стосуються взаємозв'язку між рівнем синтезу NO та проявами патогенезу і наслідками діабетичної гепато- та нефропатії, є обмеженою, а їх зміст нерідко має суперечливий характер. Практично відсутні у літературних джерелах аналітичні дані про структурно-функціональні зміни у печінці та нирках при ЦД та застосуванні попередників синтезу NO (L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату) та блокаторів NO-синтази (N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину). Не проводилось комплексне порівняльне дослідження результатів призначення модуляторів синтезу оксиду азоту залежно від стадії розвитку експериментального ЦД. Потребують з'ясування наслідки поєданого впливу прекурсорів та інгібіторів утворення оксиду азоту на патогенетичні ланки ураження печінки та нирок при ЦД.

Проведення таких досліджень сприятиме розширенню існуючих уявлень про патогенез ураження печінки та нирок при ЦД та встановленню ролі системи L-аргінін–NO у молекулярних механізмах змін, що виникають. Результати поглибленого вивчення зазначених аспектів проблеми дозволять науково обґрунтувати патогенетичну доцільність застосування прекурсорів NO

при діабетичних гепато- та нефропатії, що може бути корисним при формуванні ефективної диференційованої тактики для профілактики та лікування уражень печінки та нирок при цукровому діабеті.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації затверджена вченою радою Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського 24 листопада 2009 року (протокол № 8). Дисертаційна робота є фрагментом комплексних науково-дослідних тем "Роль змін активності системи оксиду азоту в патогенезі гіпоксичних станів різної етіології і пошук способів фармакологічної корекції" (№ держреєстрації 0104U004519) та "Вплив попередників та інгібіторів синтезу оксиду азоту на перебіг метаболічних процесів при патологічних станах різного генезу" (№ держреєстрації 0107U004456). Дисертант – співвиконавець названих тем. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією МОЗ України та НАМН України „Нормальна і патологічна фізіологія” 20 жовтня 2010 року (протокол № 2).

Мета дослідження. З'ясувати особливості впливу попередників синтезу оксиду азоту (L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату) та блокаторів NO-синтази (N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину) на окремі патогенетичні ланки ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті та розробити методику попередження розвитку і прогресування даного патологічного процесу.

Завдання дослідження.

1. Встановити структурно-функціональні зміни печінки та нирок у щурів при експериментальному цукровому діабеті, викликаному стрептозотоцином.
2. Дослідити особливості впливу прекурсорів синтезу оксиду азоту L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату (при їх уведенні з 15 по 28 добу експерименту) на патогенетичні ланки ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті.
3. Встановити особливості впливу інгібітора NO-синтази неселективної дії N-нітро-L-аргініну та блокатора індукцйбельної ізоформи ферменту аміногуанідину (при їх уведенні з 15 по 28 добу експерименту) на патогенетичні ланки ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті.
4. Провести порівняльний аналіз впливу попередника синтезу оксиду азоту L-аргініну-L-глутамату та блокатора цього процесу аміногуанідину (при їх уведенні

з 2 по 28 добу експерименту) на патогенетичні ланки ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті.

5. Встановити особливості впливу L-аргініну-L-глутамату на патогенетичні ланки ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті при його комбінованому застосуванні з блокатором NO-синтази аміногуанідином (при їх уведенні з 15 по 28 добу експерименту).

6. Визначити ефективність L-аргініну-L-глутамату як засобу корекції ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті та дослідити роль стимуляції синтезу оксиду азоту в реалізації його гепато- та нефропротекторної активності.

Об'єкт дослідження. Стрептозотоциновий цукровий діабет у щурів.

Предмет дослідження. Особливості патогенезу ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті та можливість його корекції модуляторам синтезу оксиду азоту.

Методи дослідження: біохімічні – для вивчення ступеня порушень вуглеводного обміну, систем прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, маркерних показників їх ураження у сироватці крові, для оцінки рівня синтезу оксиду азоту при стрептозотоциновому діабеті та в процесі корекції попередниками та блокаторами цього процесу; морфологічні – для оцінки структурних змін у печінці та нирках при діабеті та під впливом засобів корекції; статистичні – для обробки цифрових даних методом варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента і оцінки результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше доведено, що гепато- та нефропатія при стрептозотоциновому діабеті, яка проявляється наростанням у сироватці крові біохімічних маркерів ураження печінки та нирок, патологічними змінами гістологічної структури цих органів, порушенням у них прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, дискоординацією функції електронно-транспортного ланцюга мітохондрій, розвивається на тлі пригнічення синтезу у їх тканині оксиду азоту.

Уперше встановлено, що L-аргініну-L-глутамат проявляє захисну дію і зменшує прояви ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті з

одночасним зниженням рівнів гіперглікемії та глікозильованого гемоглобіну в крові експериментальних тварин. Позитивний вплив L-аргініну-L-глутамату на стан внутрішніх органів при стрептозотоциновому діабеті спостерігається як при його введенні з 15 по 28 добу експерименту (у період стабілізації патологічного процесу), так і, більшою мірою, у випадку, коли його застосування проводиться протягом всього періоду дослідження (з 2 по 28 добу експерименту).

Уперше з'ясовано, що у механізмах позитивного впливу L-аргініну-L-глутамату на структуру та функцію печінки і нирок при стрептозотоциновому діабеті, поряд з антиоксидантними властивостями, відіграє роль його здатність стимулювати синтез оксиду азоту. Останнє підтверджується встановленими даними про позитивний вплив іншого прекурсора синтезу NO – L-аргініну при цій патології та фактом прогресування виявлених структурних та функціональних порушень у печінці та нирках при стрептозотоциновому діабеті під впливом інгібіторів NO-синтази: аміногуанідину та, особливо, N-нітро-L-аргініну.

Уперше встановлено факт зменшення позитивного впливу L-аргініну-L-глутамату на стан печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті при його комбінованому застосуванні з блокатором індукцбельної NO-синтази аміногуанідином, що підтверджує важливість стимуляції синтезу оксиду азоту у реалізації гепато- та нефропротекторних властивостей L-аргініну-L-глутамату.

Практичне значення одержаних результатів. Встановлено позитивний вплив прекурсорів та негативний вплив інгібіторів синтезу оксиду азоту на патогенетичні ланки ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті, що поглиблює існуючі уявлення про механізми ушкодження внутрішніх органів при даному патологічному процесі. Доведення ефективності попередника синтезу оксиду азоту L-аргініну-L-глутамату при його застосуванні для корекції ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті науково обґрунтовує доцільність та перспективність поглибленого вивчення прекурсорів синтезу оксиду азоту як засобів для профілактики та лікування діабетичної гепато- та нефропатії.

Отримані результати можуть бути використані при вивченні курсів патологічної фізіології, ендокринології, фармакології, патоморфології. Результати

досліджень впроваджено у навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології у Дніпропетровській державній медичній академії, Буковинському державному медичному університеті, ДЗ “Луганський державний медичний університет”, Вінницькому національному медичному університеті імені М.І. Пирогова, Запорізькому державному медичному університеті, ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”, ДУ “Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського”, ДВНЗ „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського”, Одеському національному медичному університеті, ВДНЗ України „Українська медична стоматологічна академія”, Харківському національному медичному університеті, у наукові дослідження ДУ “Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України”.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом самостійно проведено пошук та аналіз вітчизняних і зарубіжних інформаційних джерел відповідно до теми дослідження, опановано та виконано експериментальні методики, здійснено статистичний аналіз отриманих результатів, написано усі розділи дисертації. Біохімічні та морфологічні дослідження було здійснено спільно з працівниками Лабораторії доклінічних досліджень лікарських засобів, акредитованої Державним фармакологічним центром МОЗ України (Посвідчення № 2 від 27.04.2006 р.) та атестованої МОЗ України (Атестат № 00474 від 16.12.2007 р.) та навчально-наукового інституту морфології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, за що автор висловлює їм щире подяку.

Разом із науковим керівником було сформульовано мету і завдання наукових досліджень, обґрунтовано висновки. У всіх наукових працях, що містять результати дисертаційних досліджень, у тому числі й тих, що опубліковані в співавторстві, використано фактичний матеріал, отриманий дисертантом у процесі виконання роботи. У тій частині актів впроваджень, що стосується науково-практичної новизни, викладено дані, отримані автором при виконанні дисертаційного дослідження.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень, отримані в процесі виконання дисертаційної роботи, оприлюднені на III Національному з’їзді фармакологів України „Фармакологія 2006 – крок у майбутнє” (Одеса, 2006),

Всеукраїнській науково-практичній конференції „Здобутки та перспективи внутрішньої медицини” (Тернопіль, 2006), XLIX, L та LI підсумкових науково-практичних конференціях „Здобутки клінічної і експериментальної медицини (Тернопіль, 2006, 2007, 2009), X, XIII та XIV Міжнародних медичних конгресах студентів і молодих вчених (Тернопіль, 2006, 2009, 2010), науково-практичній конференції „Роль месенджерних систем у патогенезі патологічних процесів різної етіології” (Тернопіль, 2007), 1-й, 2-й та 3-й науково-практичних конференціях „Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” (Тернопіль, 2008, 2009, 2010), Всеукраїнській науково-практичній конференції “Сучасний стан та перспективи розвитку доказової медицини у вітчизняній охороні здоров’я” (Тернопіль, 2009).

Публікації. Результати досліджень, викладених у дисертації, знайшли відображення у 22 наукових працях, з яких 7 опубліковано у фахових виданнях, рекомендованих ВАК України (у тому числі 2 – одноосібні), 15 – у матеріалах і тезах наукових конференцій, з’їздів, конгресів.

РОЗДІЛ 1

РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ У ПАТОГЕНЕЗІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА ЙОГО УСКЛАДНЕНЬ

(огляд літератури)

1.1 Роль порушень системи L-аргінін – оксид азоту у патогенезі ендотеліальної дисфункції при цукровому діабеті

В останні десятиліття широко вивчається біорегуляторна система L-аргінін – оксид азоту (NO) [6, 15, 33, 36]. Дослідження в галузі судинної фізіології, біохімії, фармакології, імунології, неврології показали, що молекулі NO притаманний широкий спектр біорегуляторних властивостей [51, 202, 214]. Поруч з іншими сигнальними молекулами (монооксидом вуглецю та гідроген сульфідом), NO продукується у багатьох клітинах та тканинах в організмі, забезпечуючи широке коло фізіологічних функцій та відіграючи роль у патогенезі численних патологічних процесів, від нейродегенеративних захворювань до цукрового діабету та патології серцево-судинної системи [202].

NO синтезується в організмі людини і тварин з амінокислоти L-аргініну за участю цитохром P450-подібних гемопротеїнів – NO-синтаз (NOS) у присутності O₂ з використанням НАДФН як джерела електронів [17, 202, 256], причому біодоступність L-аргініну є лімітуючим фактором для продукції NO [201, 257]. Одночасно утворюється неактивний L-цитрулін, частина якого у печінці перетворюється на сечовину, а частина, потрапивши у нирки, трансформується в L-аргінін, поповнюючи внутрішньоклітинні запаси цієї амінокислоти. Біодоступність L-аргініну може зменшуватись внаслідок збільшення активності аргінази, яка використовує його для синтезу сечовини і яка конкурує з NO-синтазою за субстрат. Кінцевими стабільними продуктами метаболізму NO є нітрити/нітрати – NO₂⁻/NO₃⁻ [6, 17].

NO існує у формі NO[·] (нейтральний вільний радикал, який містить „екстра”-електрон), NO⁻ (нітросильний аніон, який утворюється при додаванні

одного електрону до молекули оксиду азоту) та NO^+ (нітросонієвий катіон, який виникає при втраті одного електрону). Тільки NO^+ реагує з аденілатциклазою, що призводить до утворення цАМФ і наступним регуляторним ефектам у клітині [36, 268]. Як високо реакційноздатна та нестабільна сполука, NO проявляє універсальні регуляторні властивості, причому впливає на біохімічні та фізіологічні процеси не лише у клітинах, в яких він утворився, але й в сусідніх клітинах. Більше того, *in vivo* він може утворювати відносно стабільні з'єднання з різними макромолекулами і у такому вигляді депонуватись або ж переноситись на відстані, які значно перевищують розміри клітини [3].

Ідентифіковано три ізоформи NOS, які названі відповідно до типу клітин, де вони були вперше виявлені: nNOS (NOS1) – нейрональна, або мозкова, iNOS (NOS2) – індукцйбельна, або макрофагальна, eNOS (NOS3) – ендотеліальна [5, 33, 36]. Хоча всі ізоформи NOS каталізують утворення NO , кожна з них має свої особливості механізму дії, локалізації та біологічного значення для організму. Вказані ізоформи NOS також прийнято поділяти на конститутивну (cNOS) та індукцйбельну (iNOS) синтази оксиду азоту [15, 103, 150]. Конститутивна NOS, яка включає дві ізоформи – nNOS та eNOS, постійно знаходиться в цитоплазмі клітин, залежить від вмісту кальцію і кальмодуліну, продукує NO у невеликій кількості (пікомолях). NO , який утворюється за участю cNOS, діє як регулятор фізіологічних процесів. nNOS у значній кількості присутня у нейронах, ендотеліальних клітинах, тромбоцитах, скелетних м'язях, нирках. eNOS функціонує в ендотеліальних клітинах великих та дрібних судин, у тромбоцитах, мезангіальних клітинах [15, 150]. Хоча eNOS є мембранозв'язаною, а nNOS – цитозольною, механізм їх активації однаковий і полягає у тому, що Ca^{2+} під впливом певних стимулів (гістамін, ацетилхолін тощо) входить у клітину, де утворює комплекс з кальмодуліном. Комплекс Ca -кальмодулін виступає як кофактор і активує NOS [33, 36].

У печінці NO виробляється під впливом eNOS та iNOS різними типами клітин: гепатоцитами, ендотеліальними клітинами, зокрема клітинами Купфера, клітинами жовчних проток і бере участь, разом з іншими активними сполуками,

у міжклітинній взаємодії, фізіологічних та патофізіологічних процесах [189]. При цьому NO, який утворюється за участю eNOS, забезпечує у печінці захисні процеси через вплив на регуляцію кровотоку, внутрішньо- та міжклітинну сигналізацію, тоді як NO, який синтезується під впливом iNOS, може мати як захисний, так і пошкоджуючий вплив на печінковий гомеостаз [5]. Доведено, що експресія iNOS у печінці відбувається в тому числі у фізіологічних умовах, причому більшою мірою вона спостерігається у перипортальній зоні печінкової часточки. При цьому на гепатоцити може впливати NO, який утворився у самих гепатоцитах, в ендотеліальних та купферових клітинах [189]. Встановлено, що в людини та гризунів активація iNOS у гепатоцитах при захворюваннях печінки відбувається під впливом прозапальних цитокінів [170]. У регуляції продукції NO у печінці при різноманітних патофізіологічних процесах відіграє роль принцип зворотного зв'язку, коли під впливом NO зменшується експресія гену iNOS з наступним обмеженням утворення цього метаболіту [120]. Водночас, відомості про роль NO у патогенезі ураження печінки різної етіології є суперечливими, а баланс його захисних та цитотоксичних ефектів залежить від багатьох факторів [5].

У нирках знайдені три ізоформи NOS: nNOS представлена переважно в *macula densa* дистальних каналців і у ниркових нервах, iNOS визначається в більшості клітин каналців вздовж нефрона, eNOS типово розміщена в ендотеліальних клітинах вздовж ниркового судинного дерева [103]. Всі три ферменти експресовані у мозковому шарі нирок, де продукція NO перевищує таку в кірковій речовині [193]. Оксид азоту забезпечує нормальний кровотік у нирках, попереджує вивільнення реніну. Є дані про його постійний синтез у клітинах ендотелію та гладких м'язів ниркових судин, мезангіальних та епітеліальних каналцевих клітинах, завдяки чому він відіграє важливу роль у регуляції ниркового кровотоку, екскреторної функції нирок, тубулогломерулярного балансу [6].

У підшлунковій залозі ендогенний NO (продукується β -клітинами острівців Лангерганса у відповідь на стимуляцію глюкозою) та екзогенний NO

(утворюється при призначенні попередників цієї сполуки) активують вивільнення інсуліну з β -клітин [149]. NO регулює клітинний метаболізм та чутливість рецепторів до інсуліну, судинний тонус, нейротрансмісію та функції імунної системи. Його синтез необхідний для підтримання нормального артеріального тиску, захоплення глюкози клітинами [148].

Ендотеліальна NOS (eNOS) відповідає за продукцію NO в судинному ендотелії [150]. Її нормальна функція вимагає димеризації ферменту, присутності субстрату – L-аргініну та кофактора – (6R)-тетрагідро-L-біоптерину (BH₄), одного з найпотужніших природних відновлювачів [268, 152]. Активація eNOS, зокрема, підсилює кровотік до тканин, які чутливі до інсуліну (скелетних м'язів, печінки, жирової тканини) [259].

Індуцибельна NOS (iNOS) з'являється у клітинах після індукції їх бактеріальними ендотоксинами, деякими медіаторами запалення, цитокінами (інтерлейкін-1, інтерлейкін-2, фактор некрозу пухлин) і синтезує NO у більшій кількості (наномолях) [36]. iNOS експресується у гепатоцитах, гладких м'язах судин, серця, матки, клітинах кишечного епітелію, мононуклеарних фагоцитах тощо [33, 44]. Функціональна активність її не залежить від надходження іонів Ca²⁺ у клітину, тому вона називається кальцій-незалежною, а її активація супроводжується підвищенням генної транскрипції. Саме iNOS відіграє важливу роль у розвитку багатьох патологічних процесів [16, 36].

Оксид азоту, стимулюючи розчинну гуанілатциклазу, призводить до утворення цГМФ і через активацію протеїнкіназ викликає відповідні ефекти у клітинах [201]. Загалом існує три групи мішеней для NO: 1) гемумісні протеїни – зв'язування NO з ними відіграє роль у цитотоксичній дії макрофагів, розслабленні м'язів, синтезі АТФ і передачі нервового збудження; 2) білки, що містять SH-групи, при взаємодії з якими відбувається регуляція активності ферментів; 3) кисневі радикали, внаслідок зв'язування з якими утворюється токсичний пероксинітрит (ONOO⁻) [33, 44]. У вільному стані період піврозпаду NO коливається від 6 до 30 с. Відсутність електричного заряду та невеликі розміри молекули NO дають їй можливість легко проникати через клітинні

мембрани і, потрапляючи у клітини-мішені, спричиняти фізіологічні чи патофізіологічні ефекти [33, 36]. Корисні ефекти NO, які спостерігаються при його продукції у низьких або середніх кількостях, стосуються його важливої регуляторної ролі у низці біологічних процесів, в тому числі у захисті клітин від гіпоксії, інфекційних агентів, участі у цілому ряді клітинних сигнальних шляхів, регуляції тонуусу та проникності судин, агрегації тромбоцитів, нейротрансмісії, мітохондріального дихання, в індукції мітогенезу тощо [153, 169]. Є докази того, що NO може служити „вторинним месенджером” для інсуліну [221]. Інкубація різних тканин (серця, печінки, нирок, м’язів, кишечника, еритроцитів) з фізіологічними концентраціями інсуліну супроводжувалась активацією мембранозв’язаної NOS та синтезу NO після зв’язування гормону із специфічними рецепторами на поверхні клітин. Більше того, NO проявляв інсуліноподібні ефекти, стимулюючи транспорт та окиснення глюкози у м’язах – головної мішені для дії інсуліну. Добре задокументована і наявність рецепторів до інсуліну в ендотелії, причому ендотеліальні клітини вважаються важливою мішенню дії інсуліну, під впливом якого в них активується eNOS та утворюється NO [123, 181].

Як відомо, у нормальній функції ендотелію важливу роль відіграє баланс між ендогенними факторами, які забезпечують вазоконстрикцією та вазодилатацією [63, 186]. Відповідно, судинорозширюючими агентами є NO та простагландин (простагландин I₂), судинозвужуючими – ендотелін, ангіотензин II, судинозвужуючі простагландини [6, 87]. NO є ключовим медіатором судинної стінки і основним ендогенним вазодилататором, який не лише зменшує тонус судин, але й регулює судинний гомеостаз [63, 115, 209]. Після зв’язування ацетилхоліну з клітинами ендотелію судин в них зростає синтез NO, який дифундує у гладком’язеві волокна, де зв’язується з залізом гемової групи гуанілатциклази. Активація останньої призводить до утворення цГМФ, що викликає розслаблення мускулатури судин та їх дилатацію [15, 33, 34]. Активність eNOS також регулюється локальними концентраціями брадикініну. Цей пептид взаємодіє з B₂ рецепторами на поверхні мембрани ендотеліальних

клітин, збільшуючи продукцію NO через активацію eNOS. Ангіотензинперетворюючий фермент (АПФ), який розщеплює брадикінін на неактивні пептиди і зменшує його концентрацію, відповідно, пригнічує синтез NO [205].

Крім того, NO є одним із факторів, який обумовлює важливу антикоагуляційну роль ендотеліальних клітин, проявляючи антиагрегантну, протизапальну та антиоксидантну дію [115]. NO має також потужні антиатеросклеротичні властивості [136].

Важливою є функція NO як компоненту адаптаційних механізмів при різноманітних патологічних процесах, зв'язаних з пошкодженням ендотелію, пригніченням вазодилатації, схильністю до гіперкоагуляції [3, 12, 34].

Таким чином, оксид азоту, який утворюється в організмі з амінокислоти L-аргініну за участю ферментів NO-синтаз у різних органах і різними типами клітин, в тому числі у печінці та нирках, в ендотелії судин, є важливим компонентом фізіологічних процесів, має широкий спектр біорегуляторних властивостей, зокрема забезпечує судинний гомеостаз, залучений до реалізації ефектів інсуліну на рівні органів-мішеней тощо. Зважаючи на важливість оксиду азоту у регуляції нормальної функції ендотелію, необхідне з'ясування ролі порушень у системі L-аргінін – оксид азоту як складової розвитку ендотеліальної дисфункції при цукровому діабеті та його ускладненнях.

Відомо, що головною причиною смертності та високого рівня захворюваності пацієнтів з цукровим діабетом 1 чи 2 типу є судинні ускладнення [20, 115, 204]. При діабеті уражуються невеликі (мікроангіопатія) або великі (макроангіопатія) судини. Мікросудинні ускладнення є типовими для ретинопатії, нейропатії і нефропатії, тоді як макроангіопатія маніфестує прогресуючим атеросклерозом, який уражує такі життєво важливі органи, як серце та мозок [115]. Атеросклероз у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу є мультифакторіальним і включає численні моменти – гіперглікемію, гіперліпідемію, оксидативний стрес, пришвидшення старіння, гіперінсулінемію та гіперпроінсулінемію, порушення коагуляції та фібринолізу. Сучасна гіпотеза

щодо патогенезу атеросклеротичних порушень при діабеті включає зміни функції ендотеліальних клітин [115, 209, 212, 254]. Ендотеліальна дисфункція добре задокументована у хворих на цукровий діабет 1 та 2 типів [39, 95, 115, 142, 178, 182, 254], при високому ризику розвитку цукрового діабету 2 типу (при порушенні толерантності до глюкози, метаболічному синдромі) [131], в пацієнтів з гестаційним діабетом [176]. Ендотеліальна дисфункція у людей з цукровим діабетом є результатом дії комплексу факторів (гіперглікемії, артеріальної гіпертензії, дисліпідемії) або дії самої гіперглікемії (із зростанням рівнів цитокінів, вільних жирних кислот, кінцевих продуктів глікозилювання).

Існують переконливі докази того, що вазодилатація, яка розвивається у фізіологічних умовах під впливом NO, порушується при цукровому діабеті, як на його моделях у тварин, так і у хворих на діабет 1 і 2 типів [178, 202, 250, 259, 269]. NO залучений до таких ключових подій у розвитку атеросклерозу при цукровому діабеті, як судинний тонус, адгезія лейкоцитів та моноцитів, взаємодія тромбоцитів з судинною стінкою та проліферація гладких м'язів [204, 228]. Патогенез ендотеліальної дисфункції та судинних ускладнень при цукровому діабеті включає пошкодження сигнальної транскрипції, субстратної біодоступності та вивільнення NO, зростання деградації NO активними формами кисню, зниження чутливості гладких м'язів судин до NO та/або збільшене утворення ендотеліальних вазоконстрикторних, прозапальних та протромботичних ейкозаноїдів, які протидіють захисній активності NO [122, 207, 211, 235, 258]. Більше того, сьогодні цукровий діабет розглядається як стан генералізованої недостатності NO [156, 193].

Гіперглікемія вважається однією з провідних причин розвитку судинних ускладнень при цукровому діабеті, а її рівень корелює з ендотеліальною дисфункцією та зменшеною продукцією NO [88, 95, 127]. Належний контроль гіперглікемії довгий час залишається найкращим способом поліпшення ендотеліальної функції та попередження атеросклерозу та інших ускладнень цукрового діабету [163]. Разом з тим, гіперглікемічні епізоди можуть ускладнювати навіть добре контрольовані випадки діабету, що призводить до

активації поліолового шляху метаболізму, протеїнкінази C, зростання неензиматичного утворення AGEs із зниженням активності eNOS [85, 140, 211]. Продукти неферментативного глікозилювання білків крові, які накопичуються при гіперглікемії, зв'язують NO, чим перешкоджають нормальному функціонуванню механізмів його аутокринної дії [9].

Більшість цих шляхів активуються у відповідь на розвиток оксидативного стресу, який завдячує збільшеній генерації активних форм кисню, зокрема супероксидного аніону (O_2^-) та пероксиду водню [118, 199, 250, 258, 267]. O_2^- , який генерується при роз'єднанні мітохондріального дихального ланцюга, окислює NO в ендотелії судин, і таким шляхом порушує ендотеліальну функцію та процеси регенерації ендотеліальних клітин [215]. Перекис водню, який утворюється при дисмутації O_2^- за участю супероксиддисмутази, є субстратом для лейкоцитарної мієлопероксидази, яка, у свою чергу, каталізує окиснення NO. На тлі зниженої активності такого компонента антиоксидантної системи, як супероксиддисмутаза (СОД), O_2^- може взаємодіяти з NO з утворенням високо токсичного пероксинітриду ($ONOO^-$). Останній атакує біомолекули судинного ендотелію, судинних гладких м'язів і міокарда, призводячи до кардіоваскулярних ускладнень діабету, ретинопатії, нейропатії, нефропатії [214, 230]. Доведено також, що гіперпродукція $ONOO^-$ супроводжується зменшенням транспорту L-аргініну в ендотеліальні клітини, синтезу та біодоступності NO [134, 238]. O_2^- сам по собі може інтенсивно гальмувати активність таких ендотеліальних ензимів, як eNOS та простагліциклін-синтаза, що відіграє суттєву роль у розвитку ускладнень при цукровому діабеті в людей та тварин [83, 113, 139, 145]. Окрім того, O_2^- провокує утворення кінцевих продуктів глікозилювання (AGEs) [187].

Ступінь порушення ендотелій-залежної вазорелаксації у пацієнтів з діабетом 1 і 2 типів, як вже зазначалось, корелює з рівнем гіперглікемії [258]. При цьому встановлено, що хронічний вплив підвищеного рівня глюкози призводить до зменшення загального рівня нітритів, синтезу та активності eNOS, що відбувається внаслідок збільшення продукції мітохондріями

реактивних кисневих радикалів [173]. Гіперглікемія при діабеті супроводжується збільшенням нітрузування простациклін-синтази під впливом ONOO^- з порушенням синтезу простацикліну та активацією потужного вазоконстриктора, протромботичного агента, промоутера проліферації і лейкоцитарної адгезії тромбоксану A_2 [143].

Одним з негативних наслідків гіперглікемії при цукровому діабеті є утворення кінцевих продуктів глікозилювання (AGEs) – протеїнів або ліпідів, які стають глікозильованими після експозиції з глюкозою [87, 199]. Вони представлені у судинах і викликають зростання жорсткості артерій та відіграють роль у розвитку атеросклерозу. Накопичення AGEs у клітинах різного типу пошкоджує екстрацелюлярні та інтрацелюлярні структури та функцію. AGEs роблять внесок у розвиток мікросудинних та макросудинних ускладнень шляхом утворення перехресних зв'язків між молекулами у базальній мембрані екстрацелюлярного матриксу і шляхом генерації специфічних рецепторів. Активація останніх під впливом AGEs викликає зростання активності фактору ядерної транскрипції каппа-бета і його цільових генів, через це – експресію прозапальних протеїнів, таких як молекули адгезії, та підвищення проникності ендотелію для макромолекул. AGEs блокують активність NO в ендотелії, зменшують його вивільнення через активацію фосфокіназ [86], мають потужні проатерогенні властивості [187].

Гіперглікемія може викликати зміни внутрішньоклітинного редокс-потенціалу, що призводить до виснаження пулу НАДФН, який необхідний для утворення NO [95, 255].

Причиною інгібування активності eNOS із зниженням синтезу ендотеліального NO може бути і діабетична дисліпідемія (накопичення ліпопротеїнів, багатих тригліцеридами, зменшення кількості холестериновмісних ліпопротеїнів високої щільності та зростання кількості постпрандіальних вільних жирних кислот), що спричинює оксидативний стрес [151, 178, 255]. При цьому зменшується кількість та реактивність рецепторів NO на гуанілатциклазі, що призводить до порушення ендотелій-залежної

вазорелаксації та інших ефектів NO. Одним із механізмів порушення генерації NO ендотеліальними клітинами може бути окиснення ліпопротеїнів низької щільності з наступною інактивацією катіонного транспортера амінокислот і зменшенням біодоступності L-аргініну [125]. Механізм погіршення ендотеліальної судинної релаксації при діабеті може також завдячувати гальмуванню утилізації L-аргініну NO-синтазою з порушенням синтезу NO [236].

Важливими факторами, які призводять до зниження продукції NO та асоціюються з цукровим діабетом та серцево-судинною патологією, є знижені плазмові рівні інсуліну та L-аргініну, зростання вмісту ангіотензину II, асиметричного диметиларгініну (ADMA), гіпергомоцистеїнемія [30, 52, 148]. Зважаючи на те, що інсулін може стимулювати синтез та вивільнення ендотеліальних вазоактивних сполук, залучених до регуляції судинного тону та гомеостазу ендотелію, зокрема NO, недостатність гормону при цукровому діабеті призводить до порушення цих сигнальних механізмів та розвитку ендотеліальної дисфункції [239].

Як зазначалось вище, кофактором, що забезпечує нормальну функцію eNOS, є тетрагідробіоптерин (BH4), який постачає електрон для монооксигенування L-аргініну на eNOS [268]. BH4 є високо чутливим до окиснення під впливом ONOO⁻. Знижений рівень BH4 сприяє роз'єднанню eNOS, що не тільки приводить до зменшення синтезу NO, але й супроводжується зростанням продукції O₂⁻ під впливом eNOS [146]. Подібна трансформація eNOS із захисного ферменту на фермент, який робить внесок в оксидативний стрес при зниженні біодоступності BH4, продемонстрована не лише при цукровому діабеті, але й на моделях серцево-судинної патології у тварин та в пацієнтів з кардіо-васкулярними факторами ризику [146, 152]. Крім дефіциту BH4, у гальмуванні утворення NO при цукровому діабеті відіграє роль інгібування пентозо-фосфатного циклу із зменшенням утворення НАДФН, який є важливим кофактором для ендотеліальної NOS [277]. Інший механізм роз'єднання eNOS – розрив цинк-тіолатного центру ферменту під впливом ONOO⁻ з вивільненням цинку та окисненням тіолів, що супроводжується

дисоціацією димерів eNOS на мономери та втратою нею здатності синтезувати NO [230].

Один з механізмів, який лежить в основі розвитку ендотеліальної дисфункції при цукровому діабеті, – збільшення в крові рівня асиметричного диметиларгініну (АДМА) [109, 110, 260]. АДМА є аналогом L-аргініну, ендогенним конкурентним інгібітором NOS, який гальмує синтез NO і через це порушує функцію ендотелію [172, 246]. АДМА метаболізується шляхом гідролітичного розщеплення до цитруліну та диметиламіну за допомогою ферменту диметиламіногідролази диметиларгініну, активність і/або експресія якої може відігравати роль у патогенезі ендотеліальної дисфункції при різних захворюваннях [236, 248]. Рівень АДМА у плазмі зростає в людей з діабетом та його ускладненнями, інсулінорезистентністю, гіперхолестеринемією, атеросклерозом, артеріальною гіпертензією, хронічною нирковою та хронічною серцевою недостатністю [98, 99, 111, 194, 260]. Зокрема, викликане глюкозою зниження активності диметиламіногідролази диметиларгініну у пацієнтів з цукровим діабетом (що більшою мірою проявляється при наявності макроангіопатій) та у тварин з модельованим цукровим діабетом викликає значне підвищення сироваткових концентрацій АДМА, що супроводжується зменшенням синтезу NO та пошкодженням ендотелій-залежної вазодилатації [133, 177]. Накопичення АДМА, який є конкурентним інгібітором всіх ізоформ NOS, призводить до блокади здатності eNOS синтезувати NO, гіперпродукції супероксидного аніон-радикалу та до зростання оксидативного стресу в судинах [130, 247]. Встановлено, що підвищений базальний рівень АДМА є сильним та незалежним предиктором кардіоваскулярних ускладнень (в тому числі рівня смертності) у пацієнтів з цукровим діабетом [99, 242, 243].

Разом з тим, роль АДМА у патогенезі ЦД залишається не до кінця з'ясованою. Існує точка зору, що підвищений рівень АДМА у крові хворих на діабет, залежно від форми та стадії захворювання, може відігравати не лише негативну, але й позитивну роль, сприяючи відновленню активності eNOS щодо синтезу NO [100].

Таким чином, важливу роль у розвитку ендотеліальної дисфункції при цукровому діабеті відіграє зменшення кількості оксиду азоту, що відбувається за рахунок зростання деградації NO активними кисневими радикалами, пригнічення синтезу NO внаслідок зменшення вмісту та біодоступності його попередника L-аргініну, зниження активності eNOS, що, в тому числі, завдячує підвищеному рівню її інгібітора – асиметричного диметиларгініну та зменшенню у клітинах концентрації тетрагідробіоптерину [206, 138].

Оскільки ендотеліальна дисфункція є універсальним механізмом, який лежить в основі розвитку різноманітних ускладнень цукрового діабету, в тому числі діабетичних нефро- та гепатопатій, цікаво дослідити, яку роль у патогенезі ураження печінки та нирок при діабеті відіграють порушення у системі L-аргінін – оксид азоту. З'ясування цих механізмів дасть можливість розробляти ефективні способи спрямованої корекції уражень. Саме тому наступним етапом став аналіз літературних джерел, присвячених даному питанню.

1.2 Роль порушень системи L-аргінін – NO у патогенезі ураження печінки та нирок при цукровому діабеті та результати їх фармакологічної корекції

Незважаючи на зростання в останні роки кількості робіт, в яких висвітлюється важлива роль системи L-аргінін – NO у розвитку судинних ускладнень при цукровому діабеті, кількість спостережень, які стосуються впливу рівня синтезу NO на патогенез уражень печінки та нирок при цьому захворюванні, є невеликою та іноді суперечливого змісту. Доведено, що ключовим моментом розвитку діабетичної нефропатії, в тому числі її кінцевих стадій, є ендотеліальна дисфункція, яка супроводжується порушенням регуляторних властивостей eNOS, що прискорює ураження нирок [114, 137, 203, 273]. Розглядаються різноманітні механізми виникнення дефіциту NO у нирках при цій патології: зниження концентрації та активності ниркової кортикальної nNOS, зменшення рівня активних димерів eNOS в результаті

деградації її кофактора тетрагідробіоптерину, підвищення рівня АДМА, порушення біодоступності та ниркової тубулярної регенерації L-аргініну, інактивація NO активними кисневими радикалами, накопичення кінцевих продуктів глікозилювання тощо [6]. Зокрема, T. Tabi et al. [259] встановили знижену активність NO-синтази та зростання оксидативної трансформації NO у тканині нирок щурів із стрептозотоциновим (STZ) діабетом вже на ранніх стадіях розвитку захворювання. За даними N. Bariş et al. [89], знижений рівень L-аргініну у плазмі крові хворих на діабет 2 типу корелює з появою мікроальбумінурії та може слугувати критерієм ураження нирок при ЦД. Зменшення синтезу NO при ЦД (висновок робили за вмістом його стабільних метаболітів у сечі пацієнтів), особливо у випадку розвитку нефропатії, описано P. Tessari et al. [220]. Показано також, що при ЦД у нирках зменшується біодоступність NO. Це поєднується із зростанням продукції супероксидного аніон-радикалу, пригніченням оксигенації ниркової тканини та процесів транспорту електролітів [217, 244]. Встановлено, що вже на ранніх стадіях розвитку експериментального цукрового діабету (через 2 тижні після ін'єкції стрептозотоцину) внаслідок розвитку оксидативного стресу у кірковому шарі нирок зростають процеси деградації NO, зменшується сумарна активність NO-синтази без суттєвих змін активності eNOS, у сечі знижується кількість стабільних метаболітів NO [219, 244].

Доведено існування гендерних відмінностей у змінах біодоступності NO та проявах оксидативного стресу при ЦД, в тому числі у патогенезі діабетичної нефропатії, які більше проявляються в осіб чоловічої статі [157]. Відомо також про роль генетичного поліморфізму у патогенезі діабетичних ускладнень, зокрема нефропатії [104, 175].

За даними Coronel I. et al. [195], у розвитку діабетичної нефропатії відіграє роль збільшення утворення активних форм кисню, що, через пошкодження NO, супроводжується потенціюванням судинних ефектів адреналіну. В іншому дослідженні при STZ-діабеті встановлено зменшення вмісту NO в ендотеліальних клітинах аорти та гломерулярної тканини, що

супроводжувалось зростанням рівня ONOO^- та пригніченням активності eNOS [198]. Одним з патогенетичних механізмів діабетичної нефропатії, встановлений на мишах, в яких спостерігається дефіцит eNOS, є порушення з'єднання ендотеліального фактора росту з NO [208]. Доведено, що важливим предиктором виникнення та прогресування ураження нирок при ЦД є підвищення рівня АДМА у плазмі крові [101, 183, 234] та утворення AGEs, що супроводжується зниженням активності eNOS [141, 251]. При цьому вже на ранніх стадіях розвитку нефропатії АДМА спричиняє ішемію тубулоінтерстиціальної зони та пошкоджує фільтраційну здатність нирок шляхом зменшення продукції NO та підсилення утворення супероксидного аніону [84, 183].

Суперечливі результати отримано іншими дослідниками при вивченні системи NO при STZ-діабеті в щурів у період 1, 2 та 8 тиж. [251]. Зокрема, показане раннє зростання ниркової продукції NO та експресії протеїну eNOS в усі терміни дослідження. Разом з тим, загальна активність NOS була зменшеною в корі нирок на 65, 52 та 44 % відповідно до термінів спостереження, а активність nNOS – на 52 % на 2-му тижні діабету, вміст цГМФ зменшувався на 71, 93 та 92 %. Зниження загальної активності NOS у цих дослідах асоціювалось із зменшенням експресії протеїну нейрональної NOS у нирковій macula densa. На противагу цьому, існує точка зору, що при прогресуванні діабетичної нефропатії зростає активність NOS та утворення NO [20]. Ряд дослідників вважає, що ключовим моментом пошкодження нирок при STZ-діабеті може бути надмірне утворення ONOO^- в гломерулярному апараті органа, а призначення аміногуанідину – селективного блокатора iNOS – здатне послабити патологічні зміни [233]. Показано також, що пероксинітрит може провокувати нітрузування протеїнів мітохондрій у нирках, що є одним з важливих компонентів їх пошкодження при ЦД [232].

R. Komers та Sh. Anderson [193], розглянувши широке коло досліджень та суперечливих питань, які стосуються патофізіології ниркової NO-системи при діабеті на тлі контролю гіперглікемії за допомогою екзогенного інсуліну,

дійшли висновку, що діабет запускає механізми, які одночасно збільшують і пригнічують біодоступність NO в нирках, причому цей баланс постійно змінюється відповідно до існуючого метаболічного контролю і ступеня інсулінопенії, з переважанням на ранніх стадіях нефропатії гіперпродукції NO (за підвищення активності як eNOS, так і nNOS). Це відіграє роль у розвитку характерних гемодинамічних змін і може робити внесок у послідовні структурні пошкодження гломерул. По мірі збільшення тривалості перебігу цукрового діабету починають істотно переважати фактори, які пригнічують біодоступність NO, і в розгорнутій фазі захворювання, особливо за відсутності адекватного контролю рівня цукру в крові, відмічається дефект продукції та дії NO у нирках, особливо у кірковому шарі. Однією з причин цього явища, на думку авторів роботи, може бути накопичення AGEs. Встановлено також, що наявність мікроальбумінурії у пацієнтів з ЦД 1 типу супроводжується зниженням вмісту NO з поглибленням його дефіциту у процесі прогресування діабетичної нефропатії [49].

Печінка при цукровому діабеті нерідко залишається поза увагою клініцистів, оскільки на перший план при цьому захворюванні виступають ускладнення з боку нирок, серцево-судинної, нервової систем тощо. Проте дані літератури останніх років свідчать, що частота тяжких уражень печінки при цукровому діабеті (цирозу, гострої печінкової недостатності тощо) є суттєво більшою, порівняно з відповідними показниками у людей, які не мають цього захворювання [112, 174, 237]. Зокрема, відповідно до одного з досліджень, в якому порівнювали 438 069 пацієнтів з цукровим діабетом та 2 059 708 здорових людей загальної популяції, дана ендокринна патологія асоціюється з подвоєнням рівня захворюваності на неалкогольний стеатогепатит (NASH), цироз печінки, печінкову недостатність, випадків трансплантації органа [112]. Більше того, автори пропонують віднести печінку до органів-мішеней, які уражуються при цукровому діабеті, з регулярним скринінгом її стану за допомогою визначення активності печінкових ензимів, зокрема АлАТ. Показано також, що у пацієнтів з цукровим діабетом 1 типу, який ускладнився

гепатопатією, порівняно з групою хворих, в яких відсутнє ураження печінки, більшою мірою підвищуються амплітуда коливань глюкози крові, рівні HbA1C, холестерину, атерогенних ліпопротеїнів, вміст жовчних кислот, фібрoneктину, відбувається накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів та знижується активність ферментів антиоксидантного захисту [58].

Відомо, що у фізіологічних умовах 50 % інсуліну, який утворився у підшлунковій залозі, зв'язується гепатоцитами та використовується ними для реалізації численних анаболічних процесів [58]. Відповідно, інсулінова недостатність супроводжується структурними змінами та порушенням функцій печінки. Встановлено, що для неалкогольного стеатогепатиту (NASH), який розвивається на тлі цукрового діабету, характерні некротичні та запальні зміни печінки, утворення гранульом з наступним формуванням фіброзу [224]. Крім того, відомо, що у системі "інсулін–печінка" існує зворотний зв'язок: печінка бере участь у регуляції активності інсуліну, що має значення у патогенезі цукрового діабету [58]. Тому, незважаючи на те, що причиною NASH, крім діабету, може бути інсулінова резистентність та ожиріння, пропонується у всіх пацієнтів з неалкогольним стеатогепатитом шукати діабет [210].

Про серйозну роль, яку відіграє пошкодження печінки у розвитку серцево-судинних ускладнень цукрового діабету, почали говорити порівняно недавно [240, 252]. Зокрема, встановлено чітку залежність між неалкогольною жирною дистрофією печінки, яка діагностується у хворих на цукровий діабет, та збільшеним ризиком кардіоваскулярних ускладнень, незалежно від інших ознак метаболічного синдрому, інсулінорезистентності та відомих класичних факторів ризику [225]. Причому, тяжкість печінкових гістологічних змін прямо корелює з ознаками атеросклеротичного ураження артерій та проявами ендотеліальної дисфункції.

Підтверджена роль порушення системи L-аргінін-NO у розвитку діабетичної гепатопатії [231, 249, 270]. Зокрема, при дослідженні активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, NO-синтази та рівнів малонового діальдегіду, відновленого глутатіону та оксиду азоту у печінці

мишей із модельованим цукровим діабетом 2 типу встановлено значне зниження активності перерахованих антиоксидантних ферментів та синтази оксиду азоту, що супроводжувалось суттєвим порушенням гістологічної будови печінки експериментальних тварин [83]. Подібні результати були отримані й іншими авторами на моделі стрептозотоцинового діабету в щурів [116]. Ними зареєстровано суттєве зростання рівнів холестерину та тригліцеридів у сироватці крові, вмісту ТБК-активних продуктів у печінці, з одночасним зниженням у гомогенатах цього органа активності антиоксидантних ферментів та кількості стабільних метаболітів оксиду азоту, що спонукало дослідників використовувати для корекції виявлених порушень донатори оксиду азоту.

Досліджено також, що у мишей, які перебували на спеціальній дієті з підвищеним вмістом жирів, підвищувався сироватковий рівень глюкози та виникали ознаки неалкогольного стеатогепатиту [121]. Ці зміни супроводжувались пригніченням процесів окиснювального фосфорилування та білкового синтезу у печінці, порушенням метаболізму ліпідів та сірковмісних амінокислот, що відбувалось на тлі зниження сумарної кількості стабільних метаболітів оксиду азоту (нітритів+нітратів) у сироватці крові, пригнічення активності eNOS та біодоступності NO з одночасним зростанням рівня аргінази.

Відомо також, що при цукровому діабеті, ожирінні та метаболічному синдромі відбувається не лише зниження кількості інсулінових рецепторів, але й зменшення біодоступності NO у гепатоцитах [168].

Зважаючи на вищевикладене, логічним видається застосування при цукровому діабеті речовин, які можуть зменшити ознаки гепато- та нефропатії та усунути порушення у системі L-аргінін–оксид азоту. У цьому відношенні оптимістично налаштовують твердження про те, що належний контроль рівня гіперглікемії в пацієнтів з ЦД, яке б лікування не застосовувалось, асоціюється з відновленням функції ендотелію [254, 265], а прекурсори синтезу NO стимулюють метаболізм глюкози та регулюють інсулінорезистентність [263, 275]. Встановлено також, що донори та попередники NO відіграють суттєву

позитивну роль у лікуванні кардіоваскулярних ускладнень ЦД, проявляючи судиннорозширюючу та антиагрегантну активність [1, 223], та хронічних ниркових захворювань [105].

З іншого боку, важливим моментом, який підкреслюється у сучасній літературі, є те, що незважаючи на доведеність участі у патогенезі уражень внутрішніх органів при цукровому діабеті активації вільнорадикальних процесів та пероксидного окиснення ліпідів, застосування класичних антиоксидантів при цій патології не супроводжується розвитком переконливих лікувальних ефектів [118, 204].

Здійснені за останні 20 років дослідження біохімії та фармакології прекурсора NO L-аргініну довели його важливу роль у попередженні та лікуванні обмінних розладів [108, 128, 129]. Накопичилась достатня кількість спостережень про позитивний вплив L-аргініну на порушення, які спостерігаються при ЦД, як в експерименті, так і в клініці. Зокрема, показано, що під дією L-аргініну зменшуються прояви ендотеліальної дисфункції, спричиненої високим рівнем глюкози та оксидативного стресу [184, 185]. Більше того, при цукровому діабеті під його впливом попереджується старіння ендотеліальних клітин, ймовірно шляхом впливу на редокс-баланс цих клітин [136]. Багатообіцяючі дані про ефективність L-аргініну як засобу для покращання ендотеліальної функції на тваринних моделях та в людей з гіперхолестеринемією та атеросклерозом оприлюднені Gornik H. L. та Creager M. A. [160]. L-аргінін здатен стимулювати утворення мітохондрій, сприяти синтезу біологічно активних молекул (оксиду азоту, монооксиду вуглецю, поліамінів, циклічного гуанозин- та аденозинмонофосфату), окисненню глюкози та жирних кислот, покращувати метаболічний профіль у тварин та людей [108, 166, 197]. L-аргінін може бути корисним для стимуляції синтезу NO та зменшення маси тіла при цукровому діабеті з ожирінням [128]. Застосування L-аргініну в цих умовах супроводжується стимуляцією продукції NO (на 71-85 %), ліполізу (на 22-24 %), окиснення глюкози (на 34-36 %) та октаноату (на 40-43 %) в абдомінальній та епідидімальній жировій тканині, що

зв'язане з активацією експресії генів ключових ферментів цих процесів: NO-синтази (на 145 %), гем-оксигенази (на 789 %), АМФ-активованої протеїнкінази (на 123 %). Є переконливий доказ того, що оксид азоту позитивно впливає на адипогенез, ліполіз, базальне та стимульоване інсуліном захоплення глюкози у нормоглікемічних щурів та при діабеті [200]. Доведено також, що екзогенний L-аргінін при STZ-діабеті збільшує біодоступність ендотеліального тетрагідробіоптерину (BH4) для синтезу оксиду азоту, плазмові концентрації L-аргініну та інсуліну, ендотеліальну концентрацію L-аргініну та BH4 та ендотеліальний синтез NO [196]. Разом з тим, аргінін у цьому спостереженні не впливав на рівень глюкози у плазмі крові щурів з ЦД. Іншими дослідниками встановлено, що при STZ-ЦД та алоксановому ЦД застосування L-аргініну приводить до помітного зменшення артеріального тиску та зниження рівнів глюкози у плазмі крові та сечі, порівняно з контрольною групою тварин [221]. Дослідження, проведене Mohamadin A. M. et al. [116], показало, що сполуки, які генерують NO (L-аргінін та натрію нітропрусид), при STZ-діабеті знижують рівень глюкози плазми крові та глікозильованого гемоглобіну, нормалізують вміст загального холестерину, холестерину ліпопротеїнів високої щільності та тригліцеридів, зменшують прояви оксидативного стресу, відновлюють активність та вміст компонентів антиоксидантної системи, збільшують утворення NO у печінці та нирках експериментальних тварин. Інші донори NO послаблювали ступінь гепатоцелюлярного ушкодження, підвищували рівень оксигенації тканини при ЦД та ішемії-реперфузії печінки [119, 216], проявляли профілактичну та лікувальну активність щодо судинних ускладнень при цукровому діабеті [261].

Інкубація крові людей, хворих на цукровий діабет 1 типу, з L-аргініном та конкурентними інгібіторами NO-синтази (NG-нітро-L-аргініном та N^ω-метил-L-аргініном) супроводжувалась очікуваними різноспрямованими змінами активності даного ферменту, що підтверджувалось відповідно наростанням та зменшенням кількості стабільних метаболітів оксиду азоту в середовищі інкубації [12]. Причому під впливом L-аргініну суттєво знижувалась здатність

тромбоцитів до агрегації, інгібітори NO-синтази проявляли протилежну дію. Подібна здатність L-аргініну попереджувати тромбоутворення у хворих на цукровий діабет може мати суттєве значення для профілактики судинних ускладнень цієї хвороби.

У дослідах *in vitro* (на виділених від щурів із STZ-діабетом еритроцитах) L-аргінін покращував здатність еритроцитів до деформації, збільшував кількість NO та зменшував інші прояви оксидативного стресу, пов'язаного з накопиченням АДМА [102]. Одним з механізмів позитивного впливу L-аргініну при накопиченні в крові ендogenous конкурентного інгібітора NOS – АДМА, як при ЦД, так і при серцево-судинних захворюваннях та кардіоваскулярних факторах ризику, є здатність L-аргініну відновлювати в цих умовах активність NOS щодо синтезу NO за рахунок постачання ферменту субстратом [110, 111]. При цьому описано „парадокс L-аргініну”, коли додавання екзогенного препарату покращує ендотелій-залежні судинні функції *in vivo*, хоча його базальна концентрація у плазмі у 25 разів перевищує константу Міхаеліса-Ментена ізольованої очищеної NOS *in vitro* [111]. В умовах збільшеної концентрації глюкози та субоптимальних кількостей кофактора NOS – тетрагідробіоптерину L-аргінін блокує утворення активних форм кисню, зокрема O_2^- , попереджує процеси нітрузування тирозину білків [117]. Позитивні ефекти L-аргініну при цукровому діабеті також пов'язують з стимуляцією новоутворення бета-клітин під впливом комплексних механізмів, які включають регуляцію на ядерному та мітохондріальному рівнях [107].

Порівняно недавно пацієнтам при ускладненнях діабету почали призначати комплексний препарат L-аргініну – L-аргініну L-глутамат (глутаргін) [55, 59-61]. При його застосуванні відбувається покращання енергетичного обміну, корекція кислотно-основного стану тканин, відмічається антиоксидантна та мембраностабілізуюча дія, зростає стійкість організму до гіпоксії. Аналіз результатів, отриманих в експерименті при вивченні різних аспектів впливу L-аргініну-L-глутамату на гепатоцити, доводить, що він стимулює накопичення клітинної енергії у вигляді креатинфосфату, знижує

вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та збільшує резерви ендогенної антиоксидантної системи, сприяє зменшенню активності цитолітичних ферментів (аланін- та аспартат-амінотрансферази), покращує транспорт кисню до тканин та його утилізацію [4]. У процесі дослідження гепатопротекторної активності L-аргініну-L-глутамату *in vitro* встановлено, що він суттєво зменшує рівень загибелі ізольованих гепатоцитів при дії на культуру клітин тетраклорметану, що супроводжується нормалізацією біохімічних показників (активності амінотрансфераз, лужної фосфатази, лактатдегідрогенази, продуктів пероксидного окиснення ліпідів) [11].

Встановлена ефективність L-аргініну L-глутамату при ураженні печінки різної етіології, в тому числі при найтяжчих його формах [57]. Доведено, що серед широкого спектру його фармакологічних ефектів домінуючу роль відіграють гіпоамонійні та гепатопротекторні властивості, причому підкреслюється, що універсальність його дії при патологічних процесах різного походження пов'язана із здатністю знижувати прояви синдрому «метаболічної інтоксикації» через стимуляцію знешкодження аміаку у циклі синтезу сечовини [37]. Важливу роль у реалізації ефектів L-аргініну-L-глутамату відіграє також система L-аргінін–NO [14].

Досвід застосування препарату в комплексній терапії гепатопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу свідчить, що він позитивно впливає на прояви даного захворювання, що проявляється покращанням якості життя пацієнтів, зменшенням глибини метаболічних розладів, в тому числі активацією анаболічних процесів, стану антиоксидантної системи, показників пігментного, вуглеводного та білкового обмінів [60]. Призначення L-аргініну-L-глутамату супроводжується покращанням реологічних властивостей крові (зниженням її в'язкості, зростанням здатності еритроцитів до деформації), відновленням чутливості рецепторного апарату еритроцитів до інсуліну, що зменшує загрозу судинних ускладнень [61]. При дослідженні пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу та супутнім неалкогольним стеатогепатитом, яким, крім базисного лікування, в якості гепатопротектора призначали L-аргініну-L-глутамат,

встановлено, що він має ліпідокоригуючі властивості, що проявляється зниженням вмісту загального холестерину, ліпопротеїнів низької густини та тригліцеридів із зростанням рівня антиатерогенних ліпопротеїнів, що відбувається на тлі зменшення вмісту у крові лептину [59]. Корекція ліпідного обміну під впливом препарату є важливою ще й з огляду на те, що окиснений холестерин ліпопротеїнів низької густини здатен підвищувати експресію аргінази, яка конкурує з eNOS за субстрат L-аргінін, що супроводжується зниженням синтезу NO в ендотеліоцитах [6].

У хворих на цукровий діабет та неалкогольний стеатогепатит L-аргінину-L-глутамат сприяє зменшенню ступеня гепатомегалії та стеатозу печінки, знижує рівень показників пероксидного окиснення ліпідів, усуває прояви ендотеліальної дисфункції, що підтверджується зростанням вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту та зниженням рівня ендотеліну-1 у сироватці крові, запобігає розвитку діабетичних мікро- та макроангіопатій [59].

Призначення L-аргінину-L-глутамату пацієнтам з цукровим діабетом, який ускладнився нефропатією, дозволяє покращити параметри міжклітинної взаємодії, сповільнити прогресування захворювання [55]. Опосередкованим підтвердженням важливості активації синтезу оксиду азоту для попередження виникнення та зменшення проявів нефропатії при цукровому діабеті можуть слугувати дослідження А.С. Аметова та співавт. [1]. Ними встановлено, що призначення небівололу, селективного бета-адреноблокатора з виразною здатністю до стимуляції утворення ендогенного NO, хворим з діабетичною нефропатією супроводжується покращанням показників ліпідограми, зниженням артеріального тиску, зменшенням гіперглікемії, рівня вільнорадикального окиснення ліпідів, покращанням функціонального стану ендотелію судин. Останній вплив підтверджувався збільшенням просвіту артерій з одночасним зростанням кількості стабільних метаболітів оксиду азоту у сироватці крові, що супроводжувалось достовірним зменшенням рівня мікроальбумінурії та покращанням функціональної здатності нирок.

На протилежність вищезазначеним спостереженням, які містять результати позитивного впливу попередників синтезу оксиду азоту при цукровому діабеті, інші дослідження мають протилежний або ж суперечливий зміст. Зокрема, при вивченні активності супероксиддисмутази еритроцитів при стрептозотоциновому діабеті у щурів та на тлі введення прекурсора оксиду азоту L-аргініну та блокаторів NO-синтази N-нітро-L-аргініну метилового ефіру та аміногуанідину встановлена позитивна динаміка даного компонента ферментативної системи антиоксидантного захисту при застосуванні всіх цих чинників [10].

При дослідженні активності різних ізоформ NO-синтази у лейкоцитах крові при стрептозотоциновому діабеті та під впливом аміногуанідину підтверджена його інгібуюча дія щодо індукцибельної NOS, при цьому відбувалось покращання біохімічних показників, зокрема зменшувались прояви гіпоксії, активувались аеробні шляхи утворення енергетичних субстратів [8].

При вивченні закономірностей розвитку стрептозотоцинового цукрового діабету в щурів встановлена підвищена активність у їх печінці супероксиддисмутази та індукцибельної NO-синтази [179]. Разом з тим, у цих експериментах застосування інгібітора iNOS аміногуанідину не призводило до зниження активності даного ферменту.

Інша група дослідників вивчала вплив L-аргініну, N-нітро-L-аргініну метилового ефіру та аміногуанідину на активність NO-синтази, супероксиддисмутази, каталази та вміст ТБК-активних продуктів у тромбоцитах тварин із стрептозотоциновим діабетом [12]. При цьому встановлено антиоксидантні властивості інгібіторів NO-синтази, під впливом яких відбувалась нормалізація співвідношення показників пероксидного окиснення ліпідів та компонентів антиоксидантного захисту цих клітин, з одночасним зниженням активності iNOS, що дозволило авторам роботи зробити припущення про доцільність застосування блокаторів синтезу NO як чинників, здатних запобігти розвиткові судинних ускладнень при цукровому діабеті 1 типу.

Таким чином, на основі аналізу представлених літературних даних можна зробити висновок, що система L-аргінін – оксид азоту є важливою ланкою регуляції обміну речовин в організмі, а NO виробляється у різних органах і різними типами клітин і бере участь, поруч з іншими активними сполуками, у міжклітинній взаємодії, підтриманні судинного тонуусу і нормальної функції ендотелію, забезпеченні синаптичної передачі нервових імпульсів, секреторної активності залоз, в тому числі підшлункової залози, антиінфекційному захисті, розслабленні м'язів, синтезі АТФ, регуляції транспорту кисню до тканин, судинного гомеостазу тощо. Поліфункціональність молекули оксиду азоту пояснює її залученість до патогенезу різних патологічних процесів, в тому числі цукрового діабету 1 та 2 типів.

Дослідження порушень системи L-аргінін – NO при цукровому діабеті, незважаючи на існування суперечливих даних, в цілому переконують у тому, що дане захворювання можна розцінювати як стан генералізованої недостатності NO. Зменшення утворення та біодоступності цієї сполуки є одним з проявів характерної для цукрового діабету ендотеліальної дисфункції, яка відіграє суттєву роль у розвитку його ускладнень. Менше даних про зміни активності системи L-аргінін–NO у нирках при ЦД, а існуючі дослідження мають суперечливий характер. Практично відсутні роботи, в яких описується рівень синтезу NO у печінці при гепатопатії, яка розвивається при ЦД. Разом з тим, всі печінкові клітини беруть участь у синтезі цієї сполуки у фізіологічних умовах. Також переконливо доведено, що ураження печінки при цукровому діабеті є незалежним предиктором зростання частоти серцево-судинних ускладнень даного захворювання.

Вищезазначене стало підґрунтям для застосування прекурсорів синтезу NO, в тому числі L-аргініну, для корекції ендотеліальної дисфункції у хворих на ЦД 1 та 2 типів. На сьогодні накопичилась достатня кількість спостережень про їх позитивний вплив при цій патології, як в експерименті, так і в клініці. Зокрема, показано, що під дією L-аргініну зменшуються патологічні прояви, спричинені високим рівнем глюкози та оксидативним стресом. Проте, лише

поодинокі дослідження присвячені корекції функції печінки та нирок прекурсорами NO L-аргініном та L-аргініну-L-глутаматом при їх ураженні на тлі цукрового діабету.

Таким чином, поглиблене вивчення ролі змін активності системи L-аргінін–оксид азоту у патогенезі гепато- та нефропатії на тлі експериментального цукрового діабету та доведення можливостей корекції порушень, які виникають, за допомогою попередників синтезу NO є актуальним завданням, вирішення якого сприятиме розширенню наших знань щодо патогенетичних механізмів ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та обґрунтуванню способів та шляхів корекції цих уражень, зокрема, за допомогою донаторів та прекурсорів NO.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Відбір і групування тварин для дослідження

Для вивчення впливу попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту на перебіг стрептозотоцинового цукрового діабету (STZ-діабету) дослідження проводили на 148 білих нелінійних щурах-самцях з масою тіла 120-150 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Вибір для дослідження самців цього виду тварин обумовлений тим, що максимальну чутливість до діабетогенної дії стрептозотоцину мають щури та саме у самців, порівняно із самками, β -клітини острівців Лангерганса найбільш чутливі до пошкоджуючої дії цієї сполуки [42, 43].

Всіх піддослідних тварин розділили на такі групи (таблиця 2.1): 1 – інтактні; 2 – тварини з STZ-діабетом; 3 – тварини з STZ-діабетом, які отримували попередник синтезу оксиду азоту L-аргінін (“Sigma”, США); 4 та 5 – тварини з STZ-діабетом, які отримували попередник синтезу оксиду азоту L-аргініну-L-глутамат (глутаргін, фармацевтична компанія “Здоров’я”, м. Харків) відповідно через 2 тижні та з 2-ї доби від початку моделювання діабету; 6 – тварини з STZ-діабетом, які отримували блокатор NOS неселективної дії N-нітро-L-аргінін (“Oldrich. Chem. Co.”, Англія); 7 та 8 – тварини з STZ-діабетом, які отримували блокатор індукцйбельної ізоформи NOS аміногуанідин (ООО „Химлабораторреактив”, Київ) відповідно через 2 тижні та з 2-ї доби моделювання діабету; 9 – тварини з STZ-діабетом, які отримували глутаргін у поєднанні з аміногуанідином.

STZ-діабет моделювали одноразовим інтраперитонеальним введенням STZ (“Sigma”, США) у дозі 50 мг/кг маси тіла тварини [227]. Відомо, що після одноразової ін’єкції STZ у дозі 50 мг/кг маси вже через 10-14 діб у тварин відбувається формування маніфестуючого діабету з гіпоінсулінемією, гіперглікемією, дисліпідемією та автоімунним компонентом [42, 132].

Розподіл експериментальних тварин при STZ-діабеті та призначенні попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту

Умови досліджу		Кількість тварин		Тривалість призначення препаратів (доби)	Номер серії
		Біохімічні дослідження	Гістологічні дослідження		
Контроль (інтактні)		18	6	–	1
STZ-діабет		30	6	1	2
STZ-діабет	L-аргінін	10	–	14	3
	Глутаргін	10	6	14	4
	Глутаргін	10	–	28	5
	N-нітро-L-аргінін	10	6	14	6
	Аміногуанідин	10	6	14	7
	Аміногуанідин	10	–	28	8
	Глутаргін + Аміногуанідин	10	–	14	9

STZ розчиняли *ex tempore* та вводили на цитратному буфері (рН 4,5), зважаючи на той факт, що у лужному та нейтральному середовищі він швидко деградує до неактивних метаболітів та втрачає свою діабетогенну активність [43, 124]. Стрептозотоцинову модель цукрового діабету було обрано тому, що вона етіологічно та патогенетично найбільше відповідає цукровому діабету в людини, традиційно вважаючись аналогом діабету 1 типу [43]. Разом з тим, відомо, що порушення секреції інсуліну внаслідок пошкодження β -клітин є характерною рисою як діабету 1 типу, так і 2 типу [165]. Відповідно до даних літератури, стрептозоточин може бути використаний і для моделювання цукрового діабету 2 типу та його ускладнень [90, 198].

L-аргінін вводили по 25 мг/кг маси тварини у вигляді 2,5 % водного розчину [46], фармакопейний 4 % розчин L-аргініну-L-глутамату (глутаргін) –

по 45 мг/кг маси тварини в еквімолярній дозі у перерахунку на L-аргінін [82]. N-нітро-L-аргінін вводили по 10 мг/кг маси щура у вигляді 1 % водного розчину [46], аміногуанідин – по 10 мг/кг маси тварини у вигляді 1 % водного розчину [106].

У серіях 3, 4, 6 та 7 введення досліджуваних речовин (L-аргініну, глутаргіну, N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину відповідно) розпочинали через 2 тижні після моделювання патології і застосовували їх інтраперитонеально, один раз на добу, щоденно, впродовж 2 тижнів (з 15 по 28 добу досліду). У серіях 5 та 8 введення глутаргіну та аміногуанідину розпочинали через 24 год після моделювання STZ-діабету та проводили протягом 4 тижнів (з 2 по 28 добу досліду, інтраперитонеально, один раз на добу, щоденно).

Різна тривалість введення індуктора та інгібітора синтезу оксиду азоту використана з метою виявлення особливостей їх впливу на стан печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті залежно від терміну призначення. При цьому виходили з даних літератури про роль NO та пероксинітриту в ініціації ураження β-клітин підшлункової залози при стрептозотоциновому діабеті [42, 43] та припустили, що попередник утворення NO глутаргін, якщо розпочинати його введення на стадії ураження острівцевого апарату підшлункової залози стрептозотоцином, може погіршити стан печінки та нирок, блокатор індукції NO-синтази у цих умовах повинен, навпаки, зменшувати ступінь ураження.

У 9 серії використовували комбіноване введення попередника синтезу NO глутаргіну з блокатором індукції NO-синтази аміногуанідином, яке розпочинали через 2 тижні після моделювання патології і проводили впродовж 2 тижнів (з 15 по 28 добу досліду, інтраперитонеально, один раз на добу, щоденно). Ці дослідження здійснено для підтвердження позитивної ролі стимуляції утворення NO у регресії ознак гепато- та нефропатії під впливом глутаргіну при стрептозотоциновому діабеті.

У контрольній групі тварин вводили аналогічний об'єм розчинника.

Декапітацію тварин проводили під тіопенталовим наркозом через 24 год після останнього введення засобів корекції. Обираючи 4-тижневий термін дослідження, спирались на дані літератури про те, що така тривалість експерименту дозволяє встановити зміни, які виникають у внутрішніх органах тварин у період розгорнутого цукрового діабету [40].

Вивчено вплив вищевказаних речовин на показники, які характеризують активність пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи, активність мітохондріальних ферментів у гомогенатах печінки та нирок піддослідних тварин, вміст у крові глюкози, глікозильованого гемоглобіну, ТБК-активних продуктів, креатиніну, сечовини, АЛАТ, АсАТ, лужної фосфатази, стабільного метаболіту $\text{NO} - \text{NO}_2^-$, активність каталази, показники тимолової проби, зміни гістологічної будови печінки та нирок.

Всі експерименти та евтаназію тварин проводили відповідно до положень “Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986), „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [22] та вимог комісії з біоетики ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського" (протокол № 3 від 15.10.2010 р.).

2.2 Визначення активності процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ)

Активність процесів пероксидного окиснення ліпідів досліджували у тканині печінки, нирок, сироватці крові.

2.2.1 Метод визначення концентрації ТБК-активних продуктів (ТБП)

Принцип методу полягає у здатності вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, а саме малонового діальдегіду (МДА), при взаємодії з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) у кислому середовищі утворювати комплекс, інтенсивність забарвлення якого адекватна вмісту ТБП. Дослідження проводили

у 10 % гомогенатах печінки та нирок, у сироватці крові [2].

У звичайні центрифужні пробірки наливали по 1 мл дистильованої води, 1 мл 10 % гомогенату або 0,5 мл сироватки крові, 2 мл 30 % розчину трихлороцтової кислоти, 0,2 мл HCl концентрацією 5 моль/л, 2 мл 0,8 % водяного розчину тіобарбітурової кислоти і витримували 15 хв у киплячій водяній бані. Проби охолоджували, осад відділяли центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 10 хв. Вимірювали оптичну густину супернатанту на фотоелектроколориметрі КФК-2 при довжині хвилі $\lambda=535$ нм проти контролю, який містив 2 мл дистильованої води, 2 мл 30 % трихлороцтової кислоти і 2 мл ТБК. Розрахунок проводили, враховуючи коефіцієнт молярної екстинкції для ТБП, який дорівнює $1,56 \times 10^5$ моль⁻¹ × см⁻¹.

Кількість ТБП виражали у ммоль/л у сироватці крові та ммоль/кг у гомогенатах печінки та нирок.

2.2.2 Визначення вмісту гідропероксидів ліпідів (ГПЛ)

Вміст ГПЛ визначали за методом, який ґрунтується на тому, що екстраговані гептан-ізопропіловою сумішшю гідропероксиди мають відповідний максимум поглинання при $\lambda=232$ нм [13].

До 0,2 мл 10 % гомогенату печінки (нирок) додавали 4 мл суміші гептан-ізопропанолу (1:1) і струшували протягом 15 хв на лабораторному струшувачі АВ-30 с. Потім у пробірки додавали по 1 мл розчину HCl (рН=2,0) і по 2 мл гептану, інтенсивно струшували і після відстоювання та розшарування суміші (через 30 хв) відбирали гептановий шар і вимірювали його оптичну щільність на спектрофотометрі (дейтерієва лампа) при довжині хвилі $\lambda=232$ нм. Як контроль використовували пробу, яка містила 0,2 мл дистильованої води замість досліджуваного матеріалу.

Розрахунок вмісту ГПЛ проводили у відносних одиницях за формулою:

$$C_{\text{ГПЛ}} = E \times V_1 / V_2 = E \times 20, \quad (2.1)$$

де E – оптична щільність гептанового шару проби;

V_1 – кінцевий об'єм гептанового екстракту (4 мл),

V_2 – об'єм досліджуваного матеріалу (0,2 мл).

Вміст ГПЛ виражали в умовних одиницях екстинкції (ум. од.): у гомогенаті печінки – 10^3 ум. од./кг печінки, у гомогенаті нирок – 10^3 ум. од./кг нирок.

2.3 Дослідження стану антиоксидантної системи

Відомо, що стан антиоксидантної системи відображає ступінь активності патологічного процесу в органах і може бути критерієм ефективності фармакотерапії. У тканині печінки та нирок визначали активність супероксиддисмутази та каталази, у сироватці крові – активність каталази.

2.3.1 Визначення активності супероксиддисмутази (СОД)

Активність супероксиддисмутази визначали за методом Чевари [62]. Про активність ферменту судили за його здатністю інгібувати відновлення нітротетразолію синього.

Для дослідження брали 1 мл 10 % гомогенату печінки (нирок), приготовленого на фосфатному буфері (рН=7,4). Проводили попередню обробку досліджуваного матеріалу за допомогою суміші хлороформу та спирту з додаванням K_2HPO_4 з наступним центрифугуванням при 12000 об/хв протягом 15 хв. До 0,2 мл супернатанту додавали 1,3 мл фосфатного буферу концентрації 0,1 моль/л (рН=8,3), 1 мл розчину нітротетразолію синього, 0,3 мл розчину феназинметасульфату і 2 мл розчину НАДН₂ концентрації 0,2 ммоль/л. Проби 10 хв витримували у темряві й фотометрували при довжині хвилі $\lambda=540$ нм в кюветі з довжиною оптичного шляху 10,0 мм проти проб, до яких не додавали НАДН₂. Контролем слугували проби, в яких замість гомогенату знаходилося 0,2 мл фосфатного буферу.

Відсоток інгібування нітротетразолію синього розраховували за формулою:

$$A_{\text{СОД}} = (E_{\text{к}} - E_{\text{д}}) \times 100 / E_{\text{к}}, \quad (2.2)$$

де $A_{\text{СОД}}$ – активність супероксиддисмутази;

$E_{\text{к}}$ – екстинкція контрольної проби;

$E_{\text{д}}$ – екстинкція дослідної проби.

Кількість ферменту, яка здатна інгібувати відновлення нітротетразолію синього на 50 %, приймали за 1 ум. од. активності.

2.3.2. Визначення активності каталази (Кат)

Активність каталази визначали за методом М.А.Королук і співавт. [38]. Принцип методу ґрунтується на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс.

Досліджували сироватку крові й тканину печінки (нирок), з якої на холоді готували 10 % гомогенат на трис-НСІ буфері молярної концентрації 0,05 моль/л (рН=7,8). Реакцію запускали додаванням 0,1 мл плазми або гомогенату до 2 мл 0,03 % розчину пероксиду водню. Паралельно готували холосту пробу, в яку замість досліджуваного матеріалу вносили 0,1 мл дистильованої води. Через 10 хв реакцію зупиняли додаванням 1 мл 4 % молібдату амонію. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі при $\lambda=410$ нм проти контрольної проби, в яку замість пероксиду водню додавали 2 мл води. Активність Кат виражали в каталах (кат) і розраховували за формулою:

$$A_{\text{Кат}}=(E_x-E_d)/V \times t \times K, \quad (2.3)$$

де $A_{\text{Кат}}$ – активність каталази у кат/л (у сироватці крові) чи кат/кг (у гомогенатах органів);

E_x і E_d – екстинкції холостої і дослідної проб;

V – об'єм внесеної проби (0,1 мл);

t – час інкубації (600 с);

K – коефіцієнт мілімолярної екстинкції пероксиду водню, який дорівнює $22,2 \times 10^{-3} \text{ ммоль}^{-1} \times \text{с}^{-1}$.

2.3.3 Визначення вмісту відновленого глутатіону (GSH)

Принцип методу полягає у тому, що при взаємодії 5,5-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з вільними SH-групами GSH відбувається утворення тіонітрофенільного аніону, кількість якого прямо

пропорційна вмісту GSH [135, 253].

До 0,5 мл 10 % гомогенату печінки (нирок) додавали 1,3 мл дистильованої води, 0,2 мл 25 % сульфосаліцилової кислоти і центрифугували при 5000 об/хв протягом 10 хв. Отриманий центрифугат (0,5 мл) при додаванні 2,5 мл трис-НСІ буферу і 0,05 мл розчину Елмана змінював колір на жовто-зелений через 10 хв при кімнатній температурі. Покази знімали на спектрофотометрі (лампа накаливання) при довжині хвилі $\lambda=412$ нм. Вміст G-SH розраховували, виходячи з коефіцієнту молярної екстинкції для тіонітрофенільного аніону, який дорівнює $11400 \text{ моль}^{-1} \text{ см}^{-1}$, і виражали у ммоль/кг тканини печінки (нирок).

2.4 Методи визначення окиснювальних процесів у мітохондріях

2.4.1. Виділення мітохондрій печінки та нирок

Мітохондрії виділяли методом диференціального центрифугування 10 % гомогенату печінки та нирок, приготовленого у середовищі з розчином сахарози молярної концентрації 250 ммоль/л, трис-НСІ буферу концентрації 10 ммоль/л та ЕДТА концентрації 10 ммоль/л (рН = 7,4) [54]. Мітохондріальну фракцію отримували, центрифугуючи без'ядерний супернатант протягом 20 хв при 24000 g (6500 об/хв). Отриманий осад мітохондрій ресуспендували в середовищі виділення. Всі операції проводили на холоді. Для приготування розчинів використовували тільки бідистильовану воду.

2.4.2 Визначення активності сукцинатдегідрогенази (СДГ)

Принцип методу: відновлення фериціаніду калію, розчин якого має жовте забарвлення, до безбарвного фероціаніду калію сукцинатом під дією СДГ. Активність ферменту пропорційна кількості відновленого фериціаніду [21].

До 1 мл фосфатного буферу молярної концентрації 0,1 моль/л додавали по 0,1 мл розчинів бурштинової кислоти, ЕДТА, азиду натрію, дистильованої води і 0,5 мл суспензії мітохондрій. Проби інкубували протягом 5 хв при кімнатній

температурі для інгібування цитохромоксидази азидом натрію. Реакцію запускали додаванням 0,1 мл розчину фериціаніду калію. Проби знову інкубували при температурі 30 °С протягом 10-15 хв. Після інкубування реакцію зупиняли зануренням проб у лід та додаванням до них по 2 мл 20 % трихлороцтової кислоти. В контрольні проби трихлороцтову кислоту додавали перед внесенням суспензії мітохондрій. Після центрифугування (при 2000 об/хв протягом 15 хв) надосадову рідину фотометрували на спектрофотометрі при довжині хвилі 420 нм проти контролю. Ферментну активність розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції для фериціаніду калію:

$$A_{\text{СДГ}}=1000 \times m/2 \times M \times a \times t, \quad (2.4)$$

де $A_{\text{СДГ}}$ – активність СДГ;

m – кількість відновленого фериціаніду в пробі (по калібрувальній кривій), мкг;

M – відносна молекулярна маса фериціаніду калію;

a – вміст білка в пробі, мг;

t – час інкубації, хв.

Активність СДГ виражали в ммольх сукцинату на кг білка за хвилину: ммоль/(кг·хв).

2.4.3 Визначення активності цитохромоксидази (ЦХО)

Принцип методу ґрунтується на здатності ЦХО окиснювати за участю кисню повітря не тільки цитохроми, але й деякі органічні сполуки, зокрема диметил-пара-фенілендіамін і α -нафтол. При окисненні двох останніх сполук утворюється забарвлений продукт синього кольору – індофеноловий синій – з максимумом поглинання при довжині хвилі 610 нм. Кількість утвореного пігменту пропорційна цитохромоксидазній активності мітохондрій [31].

У пробірки Хімста наливали по 0,5 мл фосфатного буферу, рН=7,38, додавали по 1 мл 10 % водного гомогенату тканини печінки або нирок, 1 мл 0,1 % водного розчину диметил-п-фенілендіаміну і по 0,5 мл 0,2 % теплого (37 °С) розчину α -нафтолу. Вміст пробірок ретельно змішували. Залишали

стояти в темноті протягом 30 хв, струшуючи через кожні 10 хв. Потім додавали по 12 мл етилового спирту, змішували і залишали стояти ще 30 хв. Після фільтрування колориметрували забарвлений розчин, що утворився, проти спирту у ФЕКу з фільтром № 1 в кюветі з довжиною оптичного шляху 5мм при довжині хвилі $\lambda=670$ нм. Стандартом служив розчин індолфенолового синього з розрахунку 0,5 мг в 15 мл 96° етилового спирту. Розрахунок проводили за калібрувальним графіком, цитохромоксидазну активність виражали в ммоль диметил-пара-фенілендіаміну на кг білка за хв: ммоль/(кг×хв).

2.5 Визначення вмісту білка у внутрішніх органах

Вміст білка у тканині печінки та нирок визначали за методом Лоурі [24].

Принцип методу: даний метод поєднує в собі біуретову реакцію (реакцію на пептидні зв'язки) і реакцію Фоліна (на тирозин і триптофан).

Досліджуваний розчин, що містить 10–100 мкг білка, доводили дистильованою водою до 0,4 мл, змішували з 2 мл реактиву (змішували 1 мл 0,5 % розчину сірчанокислої міді, приготовленого на 1 % розчині цитрату натрію, з 50 мл 2 % розчину карбонату натрію, приготовленого на розчині натрієвого лугу концентрації 0,1 моль/л) і залишали при кімнатній температурі на 10 хв. Додавали 0,2 мл реактиву Фоліна-Чекальтеу, перемішували і через 30–40 хв вимірювали величину оптичної густини при довжині хвилі 750 нм на спектрофотометрі СФ-46. Розрахунок проводили за калібрувальним графіком.

2.6 Визначення вмісту нітрит-аніону (NO_2^-)

Оскільки нітрит-аніон є стабільним метаболітом оксиду азоту, за його кількістю можна зробити висновок про рівень експресії NO-синтази та утворення оксиду азоту у тканинах організму [41, 51]. Вміст NO_2^- визначали у сироватці крові та гомогенатах печінки (нирок) високоспецифічним спектрофотометричним методом Гріна та співавт. за даними кольорової реакції з реактивом Гріса [41, 92].

Сироватку крові і 10 % гомогенат тканини печінки (нирок) депротейнізували додаванням до 0,4 мл досліджуваного розчину 0,8 мл 0,5 нормального розчину NaOH і 0,8 мл 10 % розчину сульфату цинку. Вміст пробірки перемішували протягом 30 секунд і центрифугували протягом 15 хвилин при 9000 об/хв. Після цього 1,5 мл надосадової рідини змішували з однаковим об'ємом реактиву Гріса (складається із суміші розчинів: 1 % сульфаніламід, 0,1 % нафтилендіаміну, 2,5 % фосфорної кислоти) і інкубували 10 хв при кімнатній температурі. Абсорбцію розчину вимірювали при довжині хвилі 546 нм на спектрофотометрі. У вигляді стандарту використовували натрію нітрит.

Вміст нітрит-аніону розраховували за формулою:

$$C = C_{\text{ст}} \times D_1 / D_2, \quad (2.5)$$

де C – вміст азоту нітритів, ммоль/л чи ммоль/кг;

$C_{\text{ст}}$ – вміст азоту нітритів в стандартному розчині;

D_1 – оптична густина досліджуваного розчину;

D_2 – оптична густина стандартного розчину.

Вміст NO_2^- виражали: у сироватці крові – у мкмоль/л, у гомогенатах органів – у мкмоль/кг.

2.7 Визначення вмісту глюкози

Рівень глюкози у сироватці крові визначали орто-толуїдиновим методом [24] з використанням стандартного набору реактивів АТ „Реагент”.

Принцип методу. При нагріванні глюкози з орто-толуїдином у розчині оцтової кислоти виникає зелене забарвлення, інтенсивність якого пропорційна концентрації глюкози. Вміст глюкози виражали у ммоль/л.

2.8 Визначення вмісту глікозильованого гемоглобіну (HbA1C)

Рівень HbA1C в еритроцитах крові визначали за методом V. Chromy et al. [213] з використанням стандартного набору реактивів АТ „Реагент”.

Принцип методу. Стійка форма глікозильованого гемоглобіну містить 1-дез-окси-1(N-валіл)-фруктозу, яка збезводнюється фосфорною кислотою з утворенням 5-оксиметил-2-фуральдегіду, який взаємодіє з 2-тіобарбітуровою кислотою з утворенням кольорового комплексу, інтенсивність забарвлення якого визначається фотометрично. Визначенню не заважають лабільна форма глікогемоглобіну та фетальний гемоглобін.

Концентрацію HbA1C виражали у процентах відносно визначеного вмісту гемоглобіну.

2.9 Визначення вмісту сечовини

Принцип методу. Сечовина утворює з діацетилмонооксимом в присутності тіосемікарбазиду кольорові сполуки, інтенсивність забарвлення яких пропорційна вмісту сечовини у сироватці крові [28].

У пробірки вносили по 0,01 мл сироватки крові, для холостої проби – 0,01 мл 0,9 % розчину NaCl, для контролю – 0,01 мл калібрувального розчину сечовини. У кожну пробірку додавали по 1 мл тіосемікарбазиду та 1 мл діацетилмонооксиму. Пробірки закривали ковпачками, вміст перемішували і поміщали їх у бурхливо киплячу водяну баню на 10 хв. Потім пробірки швидко охолоджували під проточною холодною водою. Проби фотометрували при довжині хвилі 540-560 нм проти холостої проби у кюветі з довжиною оптичного шляху 10 мм. Розрахунок концентрації сечовини проводили за формулою:

$$C = E_d / E_{\text{кал}} \cdot 16,65, \quad (2.6)$$

де C – концентрація сечовини в сироватці крові, ммоль/л;

E_d – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{кал}}$ – оптична щільність калібрувальної проби;

16,65 – вміст сечовини в калібрувальному розчині.

Вміст сечовини виражали у ммоль/л.

2.10 Визначення вмісту креатиніну

Вміст креатиніну у сироватці крові визначали з використанням стандартного набору реактивів АТ „Реагент”.

Принцип методу. Пікринова кислота у лужному середовищі утворює з креатиніном продукт жовто-червоного кольору (похідне 2,4,6-три-нітроциклогексадієну). Інтенсивність забарвлення досліджуваного розчину, яка визначалась фотометрично, прямо пропорційна концентрації креатиніну у пробі. У сироватці крові вміст креатиніну досліджували після депротейнування розчином трихлороцтової кислоти.

Концентрацію креатиніну виражали у мкмоль/л.

2.11 Визначення активності амінотрансфераз

Активність аспаратамінотрансферази (АсАТ) та аланінамінотрансферази (АлАТ) у сироватці крові визначали за допомогою стандартних наборів реактивів для визначення ферментів (ТОВ НВП „Філісіт-Діагностика”), в основу яких закладено уніфікований динітрофенілгідразинний метод S. Reitman, S.A. Frenkel [241].

2.11.1. Визначення активності аспаратамінотрансферази

Принцип методу. В результаті амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яке відбувається під дією АсАТ, утворюються L-глутамінова та щавелевоцтова кислоти, остання самовільно декарбоксилюється з утворенням піровиноградної кислоти. Визначення ґрунтується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідразону піровиноградної кислоти, який в лужному середовищі дає коричнево-червоне забарвлення, інтенсивність якого пропорційна кількості утвореної піровиноградної кислоти.

У дослідні і холосту проби вносили по 0,1 мл субстратно-буферного розчину (2-оксоглутарова і L-аспарагінова кислоти у фосфатному буфері) та інкубували 3 хв при температурі 37 °С. Потім у холосту пробу додавали 0,1 мл

стоп-реагенту (розчин 2,4-динітрофенілгідразину) та в усі пробірки – по 0,02 мл сироватки крові. Ставили усі пробірки в термостат на 60 хв при температурі 37 °С. Після інкубування в дослідні проби додавали 0,1 мл стоп-реагенту і залишали при кімнатній температурі на 20 хв. Далі додавали по 1,0 мл 0,4 н розчину їдкого натрію, ретельно перемішували і залишали при кімнатній температурі на 10 хв для розвитку забарвлення. Вимірювали оптичну щільність дослідної проби проти холостої при довжині хвилі 500-560 нм. Розрахунок активності ферменту в сироватці крові проводили по калібрувальному графіку. Активність АсАТ виражали в мілімолях пірвіноградної кислоти на 1 л сироватки за 1 год інкубації: ммоль/(л·год).

2.11.2. Визначення активності аланінамінотрансферази

Принцип методу. В результаті амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією АлАТ, утворюються L-глутамінова та пірвіноградна кислоти. Визначення ґрунтується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідразону пірвіноградної кислоти, який в лужному середовищі дає коричнево-червоне забарвлення, інтенсивність якого пропорційна кількості утвореної пірвіноградної кислоти.

У дослідні і холосту пробірки вносили по 0,1 мл субстратно-буферного розчину (2-оксоглутарова кислота і DL-альфа-аланін у фосфатному буфері) та інкубували протягом 3 хв при температурі 37°С. Потім у холосту пробу додавали 0,1 мл стоп-реагенту (розчин 2,4-динітрофенілгідразину) та в усі пробірки – по 0,02 мл сироватки крові. Ставили усі пробірки в термостат на 60 хв при 37 °С. Після інкубування в дослідні проби додавали 0,1 мл стоп-реагенту і залишали при кімнатній температурі на 20 хв. Далі додавали по 1,0 мл 0,4 н розчину їдкого натрію, ретельно перемішували і залишали при кімнатній температурі на 10 хв для розвитку забарвлення. Вимірювали оптичну щільність дослідної проби проти холостої при довжині хвилі 500-560 нм. Розрахунок активності ферменту в сироватці крові проводили по

калібрувальному графіку. Активність АлАТ виражали в мілімолях піровиноградної кислоти на 1 л сироватки за 1 год інкубації: ммоль/(л·год).

2.12 Визначення активності лужної фосфатази (ЛФ)

Визначення активності ЛФ у сироватці крові проводилося з використанням стандартних наборів реактивів за методом Боданьски [28]. Принцип методу полягає у здатності β -гліцерофосфату натрію гідролізуватись під впливом ЛФ з утворенням неорганічного фосфору, кількість якого прямо пропорційна активності ферменту.

У пробірку додавали 1 мл лужного розчину β -гліцерофосфату натрію. Після прогрівання пробірки з розчином протягом декількох хвилин у термостаті при температурі 37 °С до нього додавали 0,1 мл свіжовзятої сироватки. Отриману суміш інкубували протягом 1 год при температурі 37 °С. Після чого додавали 1,1 мл розчину трихлороцтової кислоти та фільтрували. До 1,5 мл фільтрату додавали 1 мл молібденового розчину, 1 мл розчину аскорбінової кислоти, витримували 10 хв при кімнатній температурі та фотометрували при довжині хвилі 590 нм. По калібрувальному графіку визначали вміст неорганічного фосфору у дослідній та контрольній пробах. Розрахунок активності ЛФ проводили за формулою:

$$A = \frac{(D - K) \cdot 10^4}{31}, \quad (2.7)$$

де А – активність лужної фосфатази;

Д – вміст неорганічного фосфору у дослідній пробі (у мг);

К – вміст неорганічного фосфору у контрольній пробі (у мг);

10^4 – коефіцієнт перерахунку на 1 л сироватки;

31 – маса 1 ммоль неорганічного фосфору у мг.

Активність ЛФ виражали у ммоль виділеного неорганічного фосфору на 1 л сироватки за 1 год: ммоль/(л·год).

2.13 Тимолова проба

Тимолову пробу з сироваткою крові проводили з використанням стандартного набору реактивів АТ "Реагент" за методом Хуерго-Поппера [24]. Принцип методу. При взаємодії сироватки крові з тимоловим реактивом (тимолово-трис-(оксиметил)-амінометановим буфером) відбувається утворення глобулін-тимол-ліпідного комплексу, який викликає помутніння розчину.

До 5 мл тимолового реактиву додавали 0,1 мл негемолізованої сироватки, вміст пробірки перемішували, залишали на 30 хв при кімнатній температурі, знову перемішували, після чого фотометрували при довжині хвилі 660 нм проти контролю (5 мл буферного розчину). Розрахунок проводили по калібрувальному графіку.

Результати виражали в одиницях дії (од. д.).

2.14 Вивчення динаміки маси тіла тварин

Для встановлення динаміки маси тіла лабораторних тварин в процесі експерименту та її порівняння у різних досліджуваних групах, всіх щурів зважували відповідно до СОП (стандартної операційної процедури) "Зважування тварин", до ранкової годівлі в один і той же час, на вазі марки "Дина" з погрешністю вимірів ± 2 г. Зважування проводили на початку дослідження (перед введенням стрептозотоцину) та в кінці дослідження (перед евтаназією тварин).

Розраховували різницю маси тіла для кожної тварини у кожній групі на початку та в кінці дослідження у грамах та відсотках. Для порівняння динаміки маси тіла між досліджуваними групами приймали вихідну масу тіла кожної тварини за 100 %, тоді її кінцева маса у відсотках дорівнювала $100 \% + \% \text{ приросту маси за час експерименту}$, наприклад 125 %, 115 %, 117 % і т. ін. Отримані значення кінцевої маси тіла у відсотках для кожної тварини у кожній серії дослідів було використано для обчислень достовірності різниці зміни маси тіла у процесі експерименту між досліджуваними групами тварин.

2.15 Морфологічні дослідження

Для гістологічного дослідження шматочки тканини фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну і фіксаторі Ліллі, з наступною заливкою у парафін. Отримані на санному мікротомі зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Характер і глибину морфологічних змін документували за допомогою мікроскопа ЛОМО Биолам И і системи виводу зображень гістологічних препаратів. При вивченні морфологічної організації печінки звертали увагу на зміни паренхіми і основних структурних компонентів. При гістологічному дослідженні тканини нирки вивчали структуру кіркової і мозкової речовини.

2.16. Статистичний аналіз результатів досліджень

Отриманий цифровий матеріал був оброблений методами варіаційної статистики [81] з використанням значень середньої арифметичної (M), стандартної похибки середньої арифметичної (m), t критерія Стюдента, рівня значимості p . Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$. У рисунках основної частини роботи рівень значимості вказували тільки для достовірних результатів. Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel XP (США).

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

У дослідах на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях, в яких моделювали STZ-діабет, вивчено рівень загибелі та динаміку маси тіла тварин у процесі експерименту, стан системи прооксиданти-антиоксиданти (за кількістю ГПЛ та ТБК-активних продуктів, активністю СОД і Кат, вмістом GSH) та окиснювальних процесів у мітохондріях (за активністю СДГ, ЦХО), рівень синтезу NO (за кількістю його стабільного метаболіту – NO_2^-) у печінці та нирках, у крові – зміни вмісту глюкози, HbA1C, ТБК-активних продуктів, Кат, NO_2^- , показники, що характеризують стан печінки (тимолова проба, активність маркерних ферментів цитолізу – АлАТ, АсАТ та холестази – ЛФ) та нирок (вміст креатиніну, сечовини), структурні зміни у цих органах (за даними світлової мікроскопії).

3.1 Динаміка маси тіла тварин та біохімічні показники у крові при стрептозотоциновому діабеті

Встановлено, що при STZ-діабеті приріст маси тіла щурів за 28 днів експерименту, відносно їх вихідної маси, у контрольній групі склав 38 %, при STZ-діабеті – всього 13 % (табл. 3.1). Зважаючи на те, що між масою тіла тварин при стрептозотоциновому діабеті у першу і останню добу досліду достовірна різниця була відсутня, можна говорити про тенденцію до її збільшення. Водночас середній приріст маси тіла відносно їх вихідної маси у групі тварин з STZ-діабетом був на 18 % меншим, порівняно з відповідним показником у контрольній групі ($p < 0,02$).

За час спостереження у серії із стрептозотоциновим діабетом загинуло 20 % тварин, серед інтактних щурів загибель не спостерігалась.

**Зміни маси тіла тварин у процесі експерименту у контролі та при
STZ-діабеті**

Група тварин	Маса тіла, г (M±m)		Зміна маси (%)	Достовірність різниці
	вихідна	через 28 діб		
Контроль	104,2±6,1	144,2±4,1	+38	p'<0,01
STZ-діабет	117,5±6,7	132,5±3,4	+13	P'>0,05 P''<0,02

Примітка. Достовірність різниці: p' – між масою тіла на початку і в кінці досліджу; p'' – між зміною маси тіла за час експерименту при діабеті та аналогічним показником у контролі.

У результаті проведених досліджень встановлено, що через 28 діб після моделювання стрептозотоцинового діабету концентрація глюкози у крові тварин зростала з 6,53±0,18 ммоль/л у контрольній групі до 21,79±1,00 ммоль/л у тварин з діабетом, або у 3,1 раза, вміст глікозильованого гемоглобіну еритроцитів збільшувався відповідно з 5,81±0,25 абс. % до 10,28±0,54 абс. %, або в 1,8 раза (табл. 3.2).

Як свідчать отримані результати, представлені у табл. 3.2, у тварин із стрептозотоциновим діабетом відмічалась активація процесів пероксидного окиснення ліпідів, що супроводжувалось наростанням у крові вмісту ТБК-активних продуктів (на 20 %) та компенсаторним збільшенням активності одного з компонентів антиоксидантної системи – каталази (на 43 %), порівняно з контролем.

При дослідженні біохімічних показників, які є маркерами ураження печінки, встановлено такі закономірності. У щурів із STZ-діабетом вміст у крові АлАТ був вищим на 34 %, порівняно з контролем, АсАТ – на 42 %, лужної фосфатази – на 64 %, тимолової проби – на 29 %, що підтверджувало розвиток гепатопатії з проявами цитолізу та холестазу (табл. 3.2).

У тварин із стрептозотоциновим діабетом через 4 тижні від початку його розвитку зареєстровано зростання вмісту сечовини у крові на 46 % та креатиніну на 9 %, порівняно з групою інтактних щурів, що свідчило про погіршення функціонального стану нирок (рис. 3.1).

Таблиця 3.2

Параметри окремих біохімічних показників у крові контрольних тварин та при STZ-діабеті (M±m)

Показники	Групи тварин	
	Контроль (n=6)	STZ-діабет (n=8)
Глюкоза, ммоль/л	6,53±0,18	21,79±1,00 p<0,001
НbA1C, абс. %	5,81±0,25	10,28±0,54 p<0,001
ТБП, ммоль/л	1,32±0,01	1,59±0,01 p<0,001
Каталаза, кат/л	4,42±0,45	6,31±0,30 p<0,02
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	1,97±0,05	2,38±0,05 p<0,01
Креатинін, мкмоль/л	52,20±0,91	56,94±1,08 p<0,02
Сечовина, ммоль/л	5,25±0,11	7,68±0,14 p<0,001
АлАТ, ммоль/(л·год)	0,87±0,05	1,17±0,05 p<0,01
АсАТ, ммоль/(л·год)	0,85±0,06	1,21±0,08 p<0,02
ЛФ, ммоль/л	1,58±0,05	2,57±0,14 p<0,001
Тимолова проба, од. д.	1,15±0,02	1,48±0,05 p<0,01
Примітка. У цій та наступних таблицях даного розділу p – достовірність відносно контролю (інтактні тварини).		

Вказані зміни відбувались на тлі наростання у сироватці крові рівня стабільного метаболіту оксиду азоту NO₂⁻ – на 21 % (див. табл. 3.2).

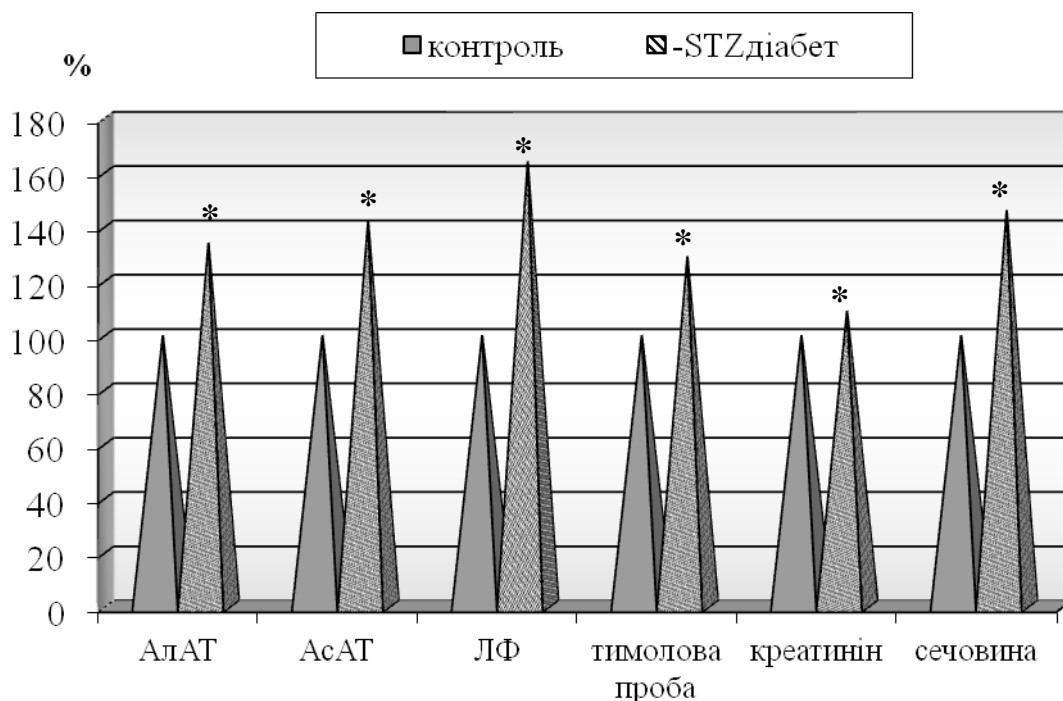


Рис. 3.1 Зміни показників функціонального стану печінки та нирок у сироватці крові при STZ-діабеті.

Примітка. У цьому та наступних рисунках * – достовірна відмінність у порівнянні з контролем; величина показників у контролі прийнята за 100 %.

Таким чином, розвиток стрептозотоцинового цукрового діабету супроводжувався загибеллю 20 % експериментальних тварин, суттєвим зменшенням приросту маси тіла у щурів даної групи впродовж 28 днів експерименту, порівняно з контролем. При аналізі біохімічних показників у крові тварин із стрептозотоциновим діабетом відмічено суттєве збільшення рівнів глюкози та глікозильованого гемоглобіну еритроцитів, вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації, активності каталази. Зареєстровано зміни, які свідчать про ознаки ураження печінки та нирок, зокрема наростання активності маркерних ферментів цитолізу та холестазу (аланін- та аспаратамінотрансфераз, лужної фосфатази), тимолової проби, рівня сечовини та креатиніну.

3.2 Особливості ураження печінки при стрептозотоциновому діабеті

Як свідчать результати, представлені у табл. 3.3, через 4 тижні розвитку стрептозотоцинового діабету у печінці спостерігалась активація пероксидного окиснення ліпідів, що підтверджувалось наростанням у гомогенатах органа вмісту ГПЛ – на 28 % та ТБК-активних продуктів – в 1,9 раза, порівняно з контрольною групою. Одночасно відмічалось компенсаторне збільшення активності антиоксидантних ферментів: СОД – на 33 % та каталази – на 14 %. Рівень відновленого глутатіону у цій серії, навпаки, знизився на 25 %, порівняно з контрольним показником.

Таблиця 3.3

Показники стану печінки у щурів із STZ-діабетом (M±m)

Показник	Група тварин	
	Контроль (n=6)	STZ-діабет (n=8)
ГПЛ, ум.од. 103/кг	4,32±0,06	5,53±0,05 p<0,001
ТБП, ммоль/кг	4,56±0,04	8,44±0,30 p<0,001
СОД, ум.од.	2,07±0,07	2,74±0,06 p<0,001
Каталаза, кат/кг	12,75±0,62	15,08±0,48 p<0,05
G-SH, ммоль/кг	5,34±0,13	4,03±0,09 p<0,001
СДГ, ммоль/(кг·хв.)	8,87±0,29	7,09±0,20 p<0,01
ЦХО, ммоль/(кг·хв.)	5,98±0,14	4,84±0,10 p<0,001
NO ₂ ⁻ , мкмоль/кг	1,17±0,07	0,93±0,02 p<0,05

У щурів з STZ-діабетом відмічене зменшення активності мітохондріальних ферментів у печінці – СДГ та ЦХО – відповідно на 24 та 18 %, порівняно з відповідними показниками у контролі (рис. 3.2).

На тлі відмічених порушень у системах прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів у печінці спостерігалось зменшення вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту – NO_2^- (на 22 %), що опосередковано свідчить про пригнічення утворення NO (див. табл. 3.3).

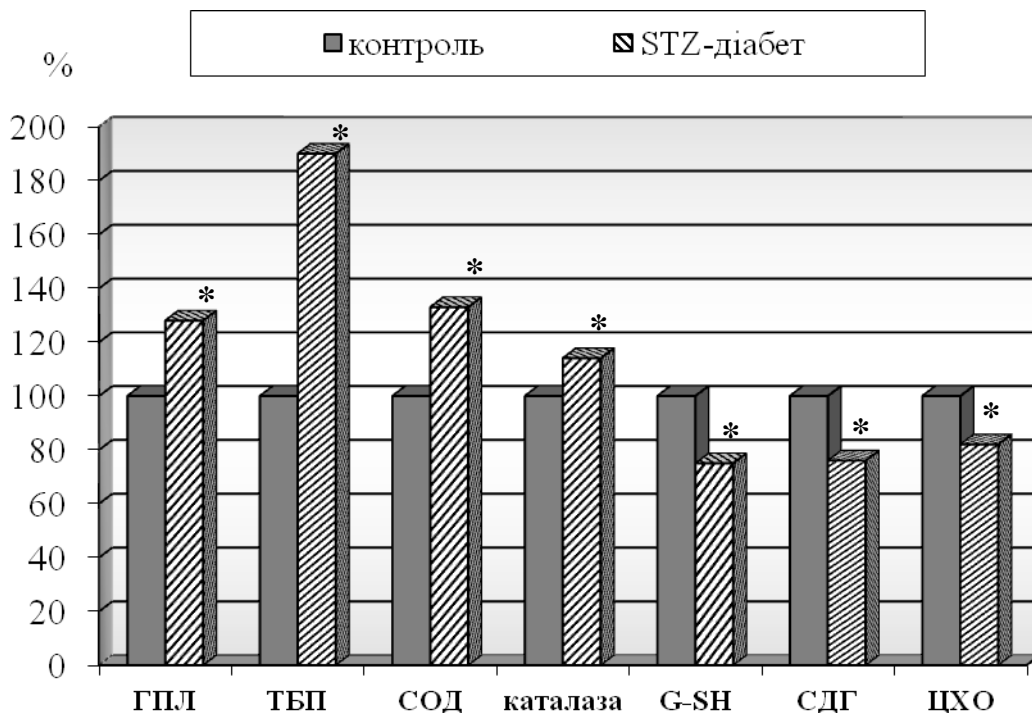


Рис. 3.2 Зміни показників систем прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів у печінці при STZ-діабеті.

Отримані при біохімічному дослідженні результати підтверджувались даними вивчення гістологічної будови печінки. При світлооптичному вивченні мікропрепаратів встановлено, що у тварин з стрептозотоциновим діабетом у печінці спостерігалися виражені судинні розлади, дистрофічні та некробіотичні зміни централобулярних гепатоцитів, осередки лімфо-гістіоцитарних інфільтратів (рис. 3.3). У центральних венах та синусоїдах досліджуваного органа відмічалися зміни архітекtonіки ендотеліоцитів, деякі клітини були десквамовані. Спостерігалася також білкова дистрофія гепатоцитів перипортальних трактів. Вказані клітини були з явищами набряку, чіткі межі між ними були відсутні. У деяких гепатоцитах виявлялися вакуолі. Останні місцями були представлені у вигляді уніполярних світлооптичних пустот, а

ядра в таких клітинах зміщувалися на периферію. Часточкова структура досліджуваного органа в основному була збережена, хоча місцями спостерігалася дисконкомплексція печінкових балок.

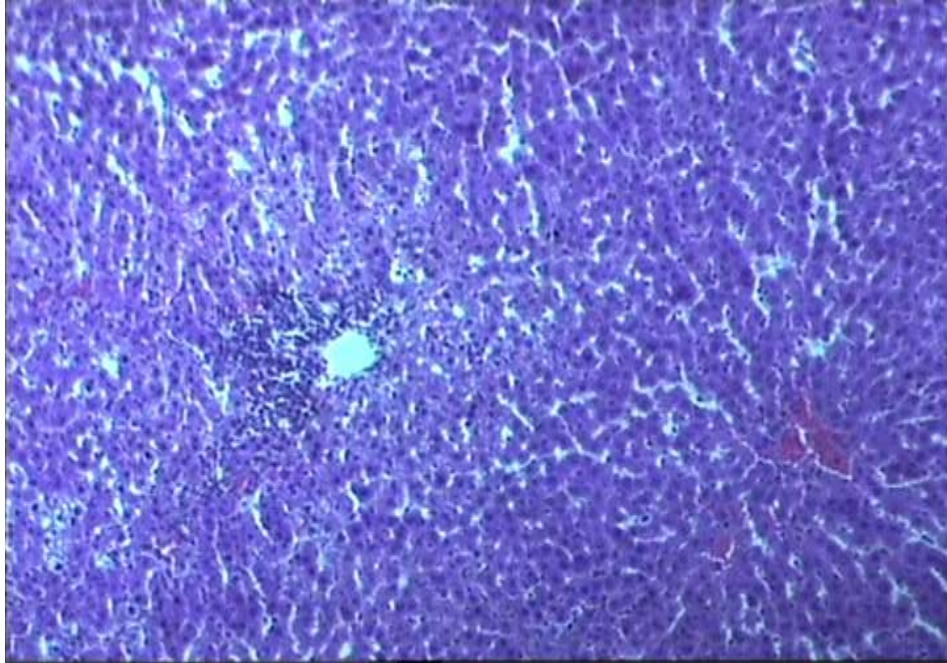


Рис. 3.3 Гістологічна структура печінки при STZ-діабеті. Стромальний набряк, дистрофічні зміни гепатоцитів та лімфо-гістіоцитарна інфільтрація портальних трактів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 280.

Гепатоцити, локалізовані на периферії часточок печінки, були змінені меншою мірою. У деяких полях зору відмічалися клітинні інфільтрати, які локалізувалися інтрачасточково та у портальних трактах. До складу інфільтратів входили в основному лімфоцити, гістіоцити та макрофаги.

Таким чином, можна стверджувати, що у патогенезі ураження печінки при стрептозотоциновому діабеті відіграють роль активація пероксидного окиснення ліпідів, яка супроводжується компенсаторним наростанням активності супероксиддисмутази та каталази, зниженням вмісту відновленого глутатіону, зменшенням активності мітохондріальних ферментів та рівня утворення стабільного метаболіту оксиду азоту, порушенням гістологічної

будови органа, зокрема дистрофічними та дистрофічно-некротичними змінами гепатоцитів, явищами вогнищевої лімфо-гістіоцитарної інфільтрації.

3.3 Особливості ураження нирок при стрептозотоциновому діабеті

При дослідженні біохімічних показників стану нирок у тварин із STZ-діабетом у тканині цього органа були зареєстровані зміни, односпрямовані з тими, які відмічались у печінці.

Як свідчать результати, представлені у табл. 3.4, у нирках спостерігалась активація процесів ліпопероксидації: кількість ГПЛ та ТБК-активних продуктів у гомогенатах органа зростала відповідно на 16 % і 29 %, порівняно з показниками у контролі.

Таблиця 3.4

Показники стану нирок у щурів із STZ-діабетом (M±m)

Показник	Група тварин	
	Контроль (n=6)	STZ-діабет (n=8)
ГПЛ, 103 ум.од./кг	3,69±0,04	4,28±0,04 p<0,001
ТБК, ммоль/кг	1,87±0,05	2,41±0,03 p<0,001
СОД, ум.од.	1,19±0,07	1,87±0,06 p<0,001
Каталаза, кат/кг	9,85±0,30	10,93±0,13 p<0,02
G-SH, ммоль/кг	3,65±0,04	2,99±0,06 p<0,001
СДГ, ммоль/(кг·хв.)	7,34±0,25	6,03±0,23 p<0,01
ЦХО, ммоль/(кг·хв.)	4,98±0,04	4,58±0,06 p<0,001
NO ₂ ⁻ , мкмоль/кг	1,25±0,03	1,04±0,02 p<0,001

Зазначені порушення супроводжувались дискоординацією компонентів антиоксидантної системи, що проявлялось компенсаторним збільшенням активності СОД і каталази (на 56 і 11 %), але зменшенням вмісту відновленого глутатіону (на 18 %) відносно цих показників в інтактних щурів. Відбувалось також гальмування процесів мітохондріального транспорту електронів, що проявлялось зниженням у гомогенатах нирок активності ферментів сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази на 20 та 8 % відповідно, порівняно з контролем (рис. 3.4).

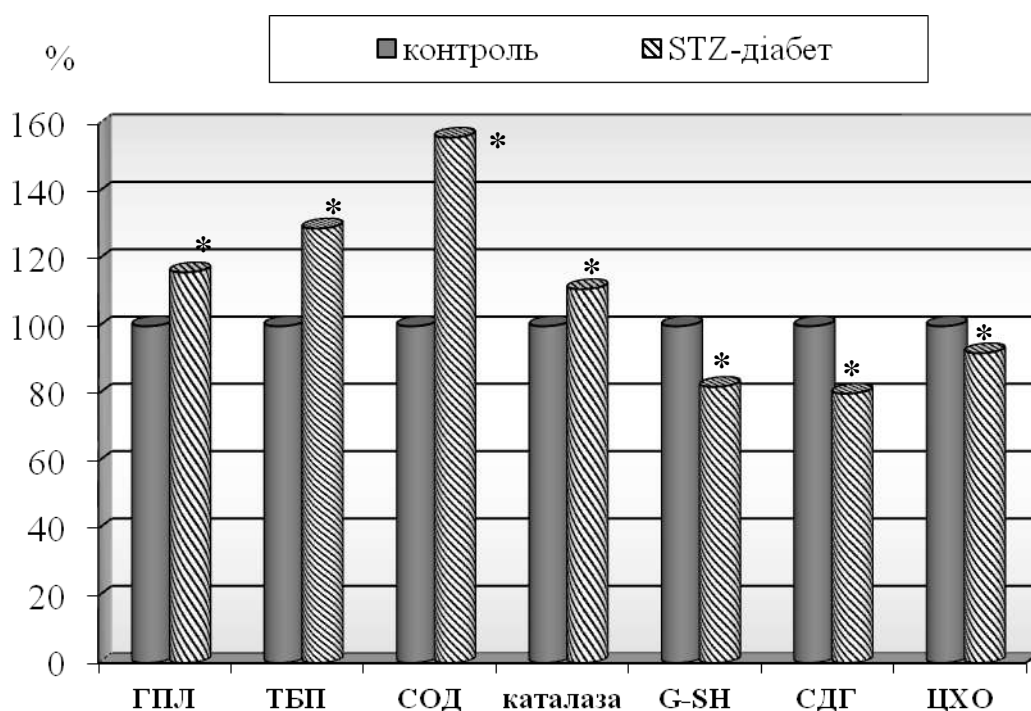


Рис. 3.4 Зміни показників систем прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів у нирках при STZ-діабеті.

При дослідженні у нирках вмісту NO_2^- відмічено зниження цього показника на 17 % (див. табл. 3.4), що опосередковано може свідчити про пригнічення синтезу оксиду азоту в цьому органі.

Виявлені при біохімічному дослідженні ознаки ураження нирок підтверджувались результатами морфологічного вивчення тканини органа.

При гістологічному дослідженні ниркової тканини у щурів із STZ-діабетом відмічено переважання патологічних змін у каналцевому відділі нефронів

(рис. 3.5). Ступінь пошкодження епітелію каналців у вигляді дифузних дистрофічних змін була різною. У їх проксимальних відділах спостерігали явища гіаліново-крапельної, рідше – вакуольної, дистрофії, аж до некрозу окремих клітин із виходом їх в просвіт каналців. У дистальних каналцях відмічались субатрофія, дистрофія та осередки десквамації епітеліальних клітин. Строма кіркової і мозкової речовини була набряклою, з явищами лімфоїдно-клітинної інфільтрації. Гістологічна будова основної частини артеріол була без особливостей, але у деяких судинах виявлялося плазматичне просякання стінок, їх розрихлення, що супроводжувалось периваскулярними набряками.

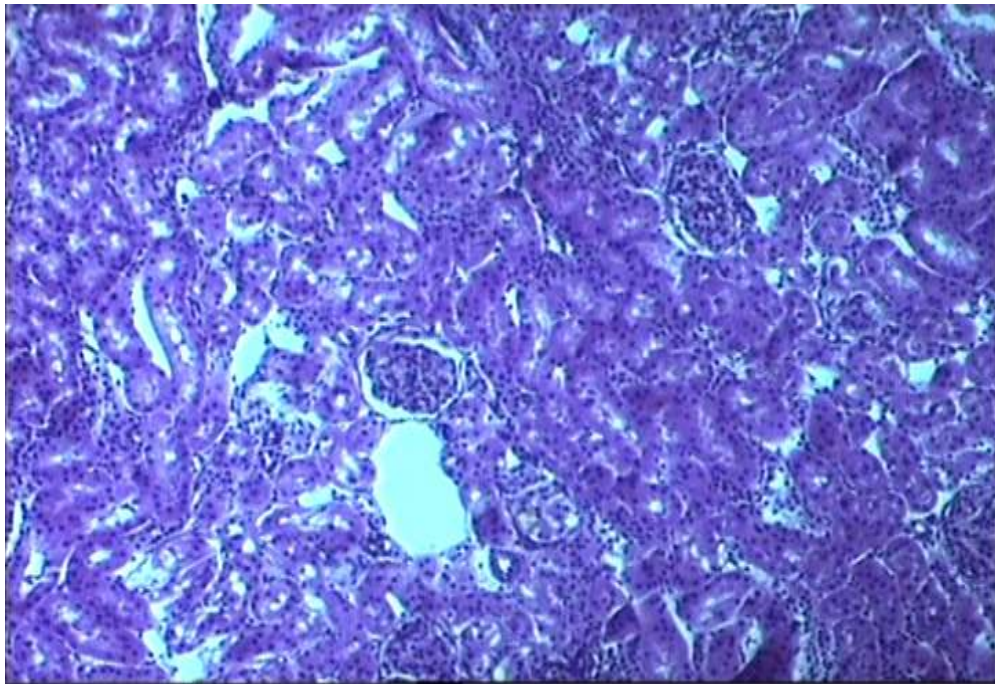


Рис. 3.5 Гістологічна структура нирки тварини при STZ-діабеті. Дифузні дистрофічні зміни епітелію каналців, лімфоїдно-клітинна інфільтрація клубочків. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 160.

Клубочки нирок були дещо збільшені у розмірах, місцями з клітинною інфільтрацією. Відмічалось також звуження просвіту порожнини капсули гломерул, що обумовлювалось набряком цитоплазми ендотеліальних клітин

судин клубочків. Прослідковувалося розширення перитубулярних капілярів мозкової речовини нирки. Ендотеліальні клітини вказаних структур були з явищами набряку, дистрофії, місцями спостерігалось відшарування ендотеліоцитів від базальної мембрани.

Таким чином, у патогенезі ураження нирок при стрептозотоциновому діабеті відіграють роль активація пероксидного окиснення ліпідів з компенсаторним наростанням активності антиоксидантних ферментів та зниженням вмісту відновленого глутатіону, зменшенням активності мітохондріальних ферментів та рівня утворення стабільного метаболіту оксиду азоту, порушенням гістологічної будови органа, зокрема дифузними дистрофічними змінами епітелію каналців, лімфоїдно-клітинною інфільтрацією клубочків, набряком та дистрофією ендотеліальних клітин у судинах кіркової та мозкової речовини нирок.

Отже, проведені дослідження показників, які характеризують рівень порушень вуглеводного обміну, механізми патогенезу та прояви ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті, показали, що:

1. Через 4 тижні від початку розвитку експериментального цукрового діабету, викликаного одноразовим введенням щурам стрептозотину, відмічається суттєве наростання у сироватці крові рівня глюкози, в еритроцитах – глікозильованого гемоглобіну, з одночасним збільшенням вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту у крові, але зменшенням рівня цієї сполуки у печінці та нирках.
2. Ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті супроводжується порушенням прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, що проявляється активацією у цих органах процесів переокиснення мембранних ліпідів, компенсаторним наростанням активності супероксиддисмутази та каталази, зменшенням вмісту відновленого глутатіону, пригніченням функції електронно-транспортного мітохондріального ланцюга,

що супроводжується зниженням активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази.

3. Ураження досліджуваних органів при стрептозотоциновому діабеті на морфологічному рівні проявляється такими ознаками: у печінці – значним розширенням центральних вен та їх повнокрів'ям, вогнищевою лімфогістіоцитарною інфільтрацією, дистрофічними та некротичними змінами централобулярних гепатоцитів; у нирках – явищами гіаліново-крапельної та вакуольної дистрофії з некрозом окремих клітин у проксимальних відділах канальців, субатрофією епітеліальних клітин – у дистальних канальцях, набряканням строми кіркової і мозкової речовини з явищами лімфоїдно-клітинної інфільтрації.

4. Структурно-функціональні прояви ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті поєднуються із наростанням у сироватці крові вмісту біохімічних маркерів пошкодження цих органів – АлАТ, АсАТ, тимолової проби, лужної фосфатази, сечовини та креатиніну.

Результати досліджень, викладені у даному розділі, знайшли відображення у таких друкованих працях [18, 23, 48, 66, 68–72, 74-76, 80].

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ ПОПЕРЕДНИКІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ ПРИ ЇХ ЗАСТОСУВАННІ ПРОТЯГОМ 14 ДІБ НА ПАТОГЕНЕТИЧНІ ЛАНКИ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТІ

У даному розділі представлено результати вивчення впливу попередників синтезу оксиду азоту L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату (глутаргіну) при їх повторному окремому введенні (корекція розпочиналась через 2 тижні після моделювання патологічного процесу та тривала протягом 14 діб, з 15 по 28 добу експерименту) на показники, які характеризують рівень порушення вуглеводного обміну та патогенетичні ланки ураження печінки та нирок при STZ-діабеті. Подібна схема застосування препаратів корекції проводилась з урахуванням зазначеного раніше факту, що вже на 10 добу після одноразової ін'єкції STZ відбувається стабілізація патологічного процесу, який характеризується сталою гіпоінсулінемією, високими рівнями глюкози у крові та сечі та явищами дисліпідемії [43, 132].

4.1 Вплив L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на динаміку маси тіла тварин та біохімічні показники у крові при стрептозотоциновому діабеті

Встановлено, що введення L-аргініну та глутаргіну тваринам із стрептозотоциновим діабетом супроводжувалось покращанням показників, які вивчались.

Як видно з даних, представлених у табл. 4.1, під впливом L-аргініну маса тварин за 28 діб експерименту зросла на 36 %, при застосуванні глутаргіну – на 30 %, причому в обох випадках приріст маси достовірно відрізнявся від відповідного показника у тварин, яким не проводили корекцію. При STZ-

діабеті приріст маси тіла тварин за 28 діб експерименту відносно їх вихідної маси склав всього 13 %.

Таблиця 4.1

Зміни маси тіла тварин у процесі експерименту при STZ-діабеті та під впливом попередників синтезу NO при їх призначенні протягом 2 тижнів

Група тварин	Маса тіла, г (M±m)		Зміна маси (%)	Достовірність різниці
	вихідна	через 28 діб		
Контроль	104,2±6,1	144,2±4,1	+38	p' < 0,01
STZ-діабет	117,5±6,7	132,5±3,4	+13	p' > 0,05 p'' < 0,02
STZ-діабет+ L-аргінін	106,7±8,3	145,0±5,3	+36	P' < 0,01 p• < 0,02
STZ-діабет+ глутаргін	124,2±8,1	161,7±7,2	+30	p' < 0,02 p• < 0,02

Примітка. Достовірність різниці: p' – між масою тіла на початку і в кінці досліду; p'' – між зміною маси тіла за час експерименту при діабеті та аналогічним показником у контролі; p• – між зміною маси тіла за час експерименту у групі, де проводили корекцію, та аналогічним показником при діабеті.

У групах, в яких проводили корекцію L-аргініном чи L-аргініну-L-глутаматом, загибель тварин впродовж 4 тижнів експерименту не спостерігалась, тоді як у щурів із стрептозотоциновим діабетом вона становила 20 %.

Результати дослідження впливу попередників синтезу оксиду азоту, при їх введенні протягом 2 тижнів тваринам із стрептозотоциновим діабетом, на біохімічні показники у крові представлено у табл. 4.2.

Встановлено, що при корекції L-аргініном рівень глюкози у сироватці крові був меншим на 14 %, порівняно з групою щурів з STZ-діабетом, при введенні L-аргініну-L-глутамату – на 22 %. Вміст глікозильованого гемоглобіну в

еритроцитах при застосуванні обох попередників синтезу оксиду азоту проявляв лише тенденцію до зниження.

Таблиця 4.2

Параметри біохімічних показників у крові щурів з STZ-діабетом та їх динаміка при корекції L-аргініном та глутаргіном (M±m)

Показник	Група тварин			
	Контроль (n=6)	STZ-діабет (n=8)	STZ-діабет+ +L-аргінін (n=10)	STZ-діабет+ + глутаргін (n=10)
Глюкоза, ммоль/л	6,53±0,18	21,79±1,01 p<0,001	18,73±0,42 p ₁ <0,05 p<0,001	16,98±0,36 p ₁ <0,01 p<0,001
HbA1C, абс. %	5,81±0,25	10,28±0,54 p<0,001	9,80±0,31 p ₁ >0,05 p<0,001	9,61±0,43 p ₁ >0,05 p<0,001
ТБП, ммоль/л	1,32±0,01	1,61±0,03 p<0,001	1,20±0,02 p ₁ <0,001 p<0,01	1,27±0,04 p ₁ <0,001 p>0,05
Каталаза, кат/л	4,42±0,20	6,69±0,17 p<0,001	5,97±0,13 p ₁ <0,02 p<0,001	5,30±0,24 p ₁ <0,01 p<0,05
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	1,97±0,05	2,38±0,05 p<0,01	2,76±0,05 p ₁ <0,01 p<0,001	2,83±0,10 p ₁ <0,01 p<0,001
Креатинін, мкмоль/л	52,20±0,91	56,94±1,08 p<0,02	49,60±0,84 p ₁ <0,01 p>0,05	47,92±1,19 p ₁ <0,01 p<0,05
Сечовина, ммоль/л	6,89±0,11	10,07±0,14 p<0,001	7,45±0,35 p ₁ <0,001 p>0,05	8,29±0,31 p ₁ <0,01 p<0,01
АлАТ, ммоль/(л·год)	0,88±0,04	1,19±0,03 p<0,001	1,01±0,04 p ₁ <0,02 p>0,05	0,92±0,03 p ₁ <0,001 p>0,05
АсАТ, ммоль/(л·год)	0,83±0,04	1,19±0,06 p<0,01	0,96±0,05 p ₁ <0,05 p>0,05	0,89±0,06 p ₁ <0,02 p>0,05
ЛФ, ммоль/л	1,61±0,02	2,65±0,08 p<0,001	1,73±0,07 p ₁ <0,001 p>0,05	1,68±0,05 p ₁ <0,001 p>0,05
Примітка. У цій та наступних таблицях даного розділу: p – достовірність відносно контролю, p ₁ – відносно STZ-діабету.				

Як свідчать отримані результати, при введенні L-аргініну та глутаргіну кількість стабільного метаболіту оксиду азоту NO_2^- у сироватці крові була на 16 % та 19 % відповідно більшою, порівняно з групою щурів з STZ-діабетом, які не отримували препарати корекції (див. табл. 4.2).

Під впливом попередників синтезу NO спостерігалось зменшення у сироватці крові рівня пероксидного окиснення ліпідів. Зокрема, вміст ТБК-активних продуктів був нижчим, порівняно з аналогічним показником при STZ-діабеті, на 25 % – при застосуванні L-аргініну та на 21 % – при введенні глутаргіну. Причому в обох випадках цей показник знаходився на рівні контролю. Активність одного з компонентів антиоксидантної системи – каталази була меншою на 11 % та 21 % при застосуванні L-аргініну та глутаргіну відповідно, ніж у тварин з діабетом, в яких не проводили корекцію.

При аналізі змін під впливом прекурсорів синтезу NO маркерних показників цитолізу та холестазу встановлено, що рівні АлАТ, АсАТ та лужної фосфатази у сироватці крові були нижчими відповідно на 16 %, 20 % та 35 % – при корекції L-аргініном і на 23 %, 25 % та 37 % – при введенні глутаргіну, порівняно з аналогічними показниками в групі тварин із стрептозотоциновим діабетом. Причому у щурів, яким вводили попередники синтезу NO, активність зазначених ферментів не відрізнялась від контрольних значень (див. табл. 4.2).

Вміст сечовини у сироватці крові був меншим на 26 % при застосуванні L-аргініну та на 18 % – глутаргіну, кількість креатиніну була нижчою на 13 % та 16 % відповідно, порівняно з групою щурів, де не проводилась корекція (рис. 4.1). Причому при введенні L-аргініну зазначені показники знаходились на рівні контрольних величин.

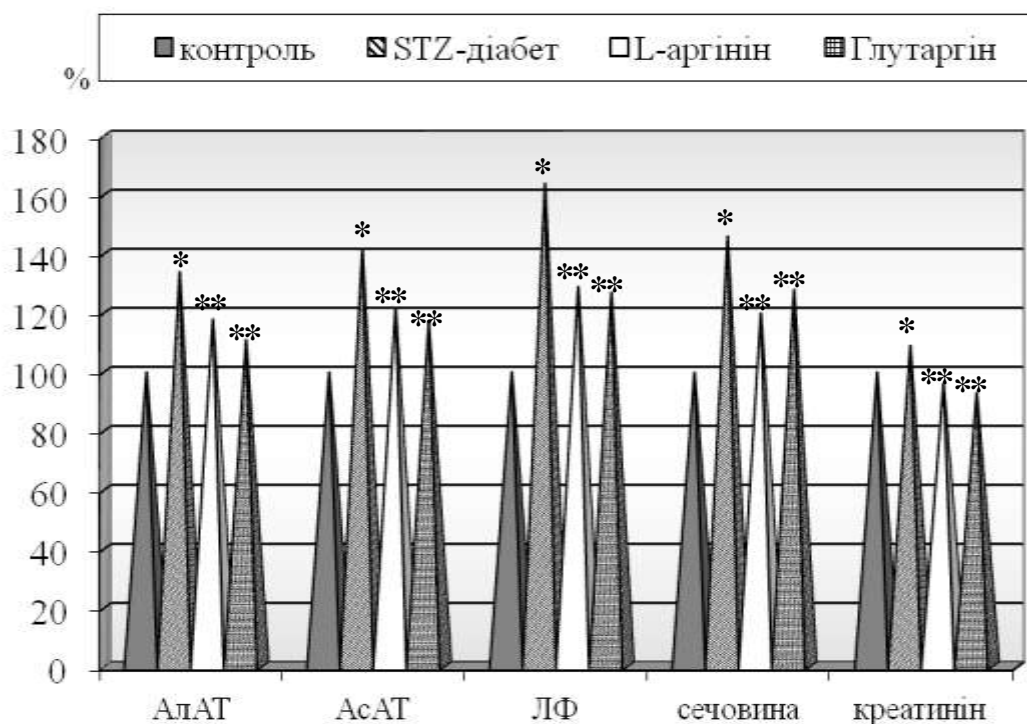


Рис. 4.1 Біохімічні показники – маркери ураження печінки та нирок у крові щурів із STZ-діабетом та їх динаміка при корекції L-аргініном та глутаргіном.

Примітка. У цьому і наступному рисунках даного розділу достовірність позначено: * – відносно контролю, ** – відносно STZ-діабету; величина показників у контролі прийнята за 100 %.

Таким чином, при порівняльному аналізі результатів дослідження біохімічних показників сироватки крові експериментальних тварин із стрептозотоциновим діабетом та при корекції прекурсорами синтезу оксиду азоту встановлені зміни, які свідчать, що на тлі застосування L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату (глутаргіну) знижується рівень гіперглікемії, зменшуються ознаки ураження печінки та нирок, що підтверджується нормальною активністю маркерних ферментів цитолізу та холестазу у тварин цих серій, більш низькими значеннями, порівняно з показниками у щурів з STZ-діабетом, рівнів сечовини та креатиніну, вмісту вторинних продуктів ліпідної пероксидації та активності каталази та відбувається на тлі зростання вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту.

4.2 Вплив L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на патогенетичні ланки ураження печінки при стрептозотоциновому діабеті

Як видно з даних, представлених у табл. 4.3, у щурів, які отримували L-аргінін та глутаргін, вміст NO_2^- у печінці був на 71 % та 81 % відповідно більшим, порівняно з аналогічним показником у групі тварин із стрептозотоциновим діабетом без корекції.

Таблиця 4.3

Показники стану печінки щурів при STZ-діабеті та їх динаміка при корекції L-аргініном та глутаргіном (M+m)

Показник	Група тварин			
	Контроль (n=6)	STZ-діабет (n=8)	STZ-діабет + L-аргінін (n=10)	STZ-діабет + глутаргін (n=10)
ГПЛ, 103 ум.од. /кг	4,32±0,06	5,53±0,05 p<0,001	4,66±0,05 p ₁ <0,001 p<0,01	4,44±0,06 p ₁ <0,001 p>0,05
ТБП, ммоль/кг	4,56±0,04	8,44±0,30 p<0,001	6,62±0,19 p ₁ <0,001 p<0,001	6,36±0,30 p ₁ <0,01 p<0,001
СОД, ум.од.	2,07±0,07	2,74±0,06 p<0,001	2,47±0,07 p ₁ <0,05 p<0,01	1,94±0,05 p ₁ <0,001 p>0,05
Кат, кат/кг	12,75±0,62	15,08±0,48 p<0,05	12,55±0,22 p ₁ <0,02 p>0,05	12,61±0,13 p ₁ <0,02 p>0,05
G-SH, ммоль/кг	5,34±0,13	4,03±0,09 p<0,001	4,67±0,14 p ₁ <0,02 p<0,02	5,09±0,11 p ₁ <0,001 p>0,05
СДГ, ммоль/(кг·хв.)	8,87±0,29	7,09±0,20 p<0,01	7,85±0,16 p ₁ <0,05 p<0,05	8,11±0,23 p ₁ <0,02 p>0,05
ЦХО, ммоль/(кг·хв.) P	5,98±0,14	4,84±0,10 p<0,001	4,40±0,08 p ₁ <0,02 p<0,001	5,67±0,04 p ₁ <0,001 p>0,05
NO_2^- , мкмоль/кг	1,17±0,07	0,93±0,02 p<0,05	1,59±0,07 p ₁ <0,001 p<0,01	1,67±0,02 p ₁ <0,001 p<0,001

При введенні попередників синтезу NO зареєстровано регресування проявів оксидативного стресу у печінці. Встановлено, що у групах тварин, яким проводили корекцію L-аргініном та глутаргіном, вміст гідропероксидів ліпідів у гомогенатах органа був відповідно на 16 % та 20 % нижчим, ніж у щурів з STZ-діабетом, причому під впливом L-аргініну-L-глутамату відбувалось відновлення даного показника до рівня контролю. Кількість ТБК-активних продуктів у цих серіях дослідів була меншою, ніж при STZ-діабеті, відповідно на 22 % та 25 % (див. табл. 4.3). Активність каталази у печінці при введенні L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату була нижчою відповідно на 17 і 16 %, порівняно з її показником у щурів, в яких корекцію не проводили. Причому при застосуванні обох попередників синтезу NO її активність знаходилась на рівні контролю (рис. 4.2).

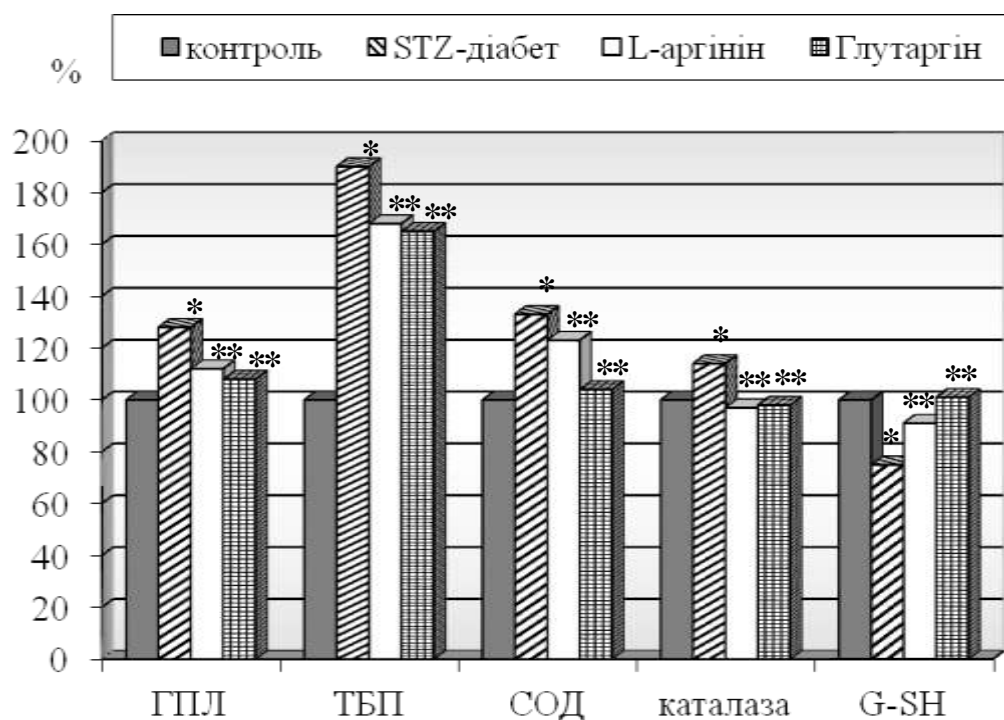


Рис. 4.2 Показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у печінці при STZ-діабеті та їх динаміка при введенні L-аргініну та глутаргіну.

Активність СОД при введенні глютаргіну була нижчою на 29 %, порівняно із групою тварин із стрептозотоциновим діабетом, і не відрізнялась від контролю. При застосуванні L-аргініну активність цього ферменту у печінці була на 10 % меншою, ніж аналогічний показник у групі щурів з діабетом, в яких не проводили корекцію (див. рис. 4.2).

Попередники синтезу NO сприяли зростанню вмісту відновленого глутатіону у печінці експериментальних тварин на 16 % та 26 % відповідно при введенні L-аргініну та глютаргіну, порівняно з групою щурів з STZ-діабетом, причому при введенні останнього засобу корекції цей показник знаходився на рівні контролю.

При дослідженні впливу речовин на компоненти мітохондріального електронно-транспортного ланцюга встановлено, що активність СДГ при застосуванні L-аргініну та глютаргіну була вищою на 11 % та 14 %, ніж у групі щурів з STZ-діабетом. Рівень ЦХО був більшим на 17 % при введенні глютаргіну а при корекції L-аргініном – меншим на 9 %, ніж при діабеті (див. табл. 4.3). При застосуванні L-аргініну-L-глутамату активність обох мітохондріальних ферментів знаходилась на рівні показників контрольної групи тварин.

При порівнянні гістологічних препаратів печінки у щурів з діабетом та тих, які отримували глютаргін, встановлено позитивну динаміку під впливом препарату (рис. 4.3).

У цій групі тварин у печінці зберігалось застійне повнокрів'я у судинах порталних трактів, їх помірна лімфо-гістіоцитарна інфільтрація. Відмічалось також розширення центральних вен з їх повнокрів'ям. Просвіт синусоїдів був звичайний, місцями – звужений, вільний від еритроцитів, проте в ньому зустрічались клітинні макрофаги. В центролобулярних гепатоцитах прослідковувалася помірно виражена білкова дистрофія. У середній частині печінкової часточки гепатоцити залишалися майже незміненими. Часточкова структура печінкової часточки при цьому зберігалася.

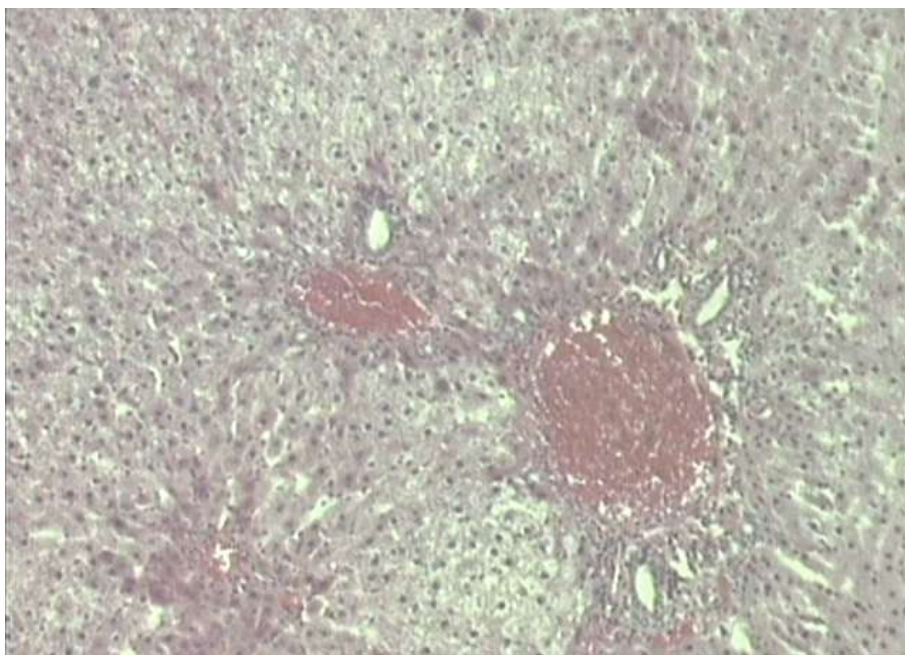


Рис. 4.3. Гістологічна структура печінки при STZ-діабеті та введенні глутаргіну. Помірно виражені дистрофічні зміни паренхіми та лімфогістіоцитарна інфільтрація портальних трактів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 200.

Таким чином, прекурсори синтезу оксиду азоту, особливо L-аргініну-L-глутамат, при їх введенні протягом 14 діб (з 15 по 28 добу досліду) тваринам із стрептозотоциновим діабетом проявляють позитивний вплив на патогенетичні ланки ураження печінки, зменшуючи порушення у системах прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів, що відбувається на тлі активації у печінці синтезу оксиду азоту. При світлооптичному дослідженні гістологічної будови органа у щурів із STZ-діабетом на тлі корекції L-аргініну-L-глутаматом відмічено її покращання.

4.3 Вплив L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на патогенетичні ланки ураження нирок при стрептозотоциновому діабеті

Наступна частина досліджень стосувалась вивчення змін стану нирок при двотижневому призначенні попередників NO тваринам із STZ-діабетом.

Як свідчать результати, представлені у табл. 4.4, введення L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату супроводжувалось зростанням вмісту NO_2^- у гомогенатах нирок відповідно на 69 % та 80 %, порівняно з групою тварин з STZ-діабетом, в яких корекція не проводилась. Одночасно спостерігалась нижча активність у нирках процесів пероксидного окиснення ліпідів. Зокрема, при застосуванні L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату вміст ГПЛ був меншим на 9 % та 12 %, ТБК-активних продуктів – на 12 % та 24 % відповідно, порівняно з аналогічними показниками у щурів з STZ-діабетом. Причому при застосуванні глутаргіну їх вміст у нирках не відрізнявся від рівня інтактних тварин.

Таблиця 4.4

Показники стану нирок щурів при STZ-діабеті та їх динаміка при корекції L-аргініном та глутаргіном (M±m)

Показник	Група тварин			
	Контроль (n=6)	STZ-діабет (n=8)	STZ-діабет+ +L-аргінін (n=10)	STZ-діабет+ + глутаргін (n=10)
ГПЛ, 103 ум.од./кг	3,69±0,04	4,28±0,04 p<0,001	3,90±0,06 p ₁ <0,02 p<0,05	3,75±0,07 p ₁ <0,001 p>0,05
ТБП, ммоль/ кг	1,87±0,05	2,41±0,03 p<0,001	2,14±0,03 p ₁ <0,001 p<0,01	1,84±0,05 p ₁ <0,001 p>0,05
СОД, ум.од.	1,19±0,07	1,87±0,06 p<0,001	1,24±0,05 p ₁ <0,001 p>0,05	1,10±0,04 p ₁ <0,001 p>0,05
Кат, кат/кг	9,85±0,30	10,93±0,13 p<0,02	10,11±0,44 p ₁ >0,05 p>0,05	9,96±0,31 p ₁ <0,05 p>0,05

G-SH, ММОЛЬ/ КГ	3,65±0,04	2,99±0,06 p<0,001	3,48±0,19 p ₁ <0,05 p>0,05	3,68±0,15 p ₁ <0,01 p>0,05
СДГ, ММОЛЬ/(КГ·ХВ)	7,34±0,25	6,03±0,23 p<0,01	7,09±0,27 p ₁ <0,05 p>0,05	7,29±0,24 p ₁ <0,01 p>0,05
ЦХО, ММОЛЬ/(КГ·ХВ.)	4,98±0,04	4,58±0,06 p<0,001	4,27±0,04 p ₁ <0,01 p<0,001	4,87±0,04 p ₁ <0,01 p>0,05
NO ₂ ⁻ , МКМОЛЬ/КГ	1,25±0,03	1,04±0,02 p<0,001	1,78±0,06 p ₁ <0,001 p<0,001	1,88±0,06 p ₁ <0,001 p<0,001

Активність СОД у нирковій тканині при застосуванні L-аргініну та глутаргіну була меншою на 34 % та 41 % відповідно, порівняно з тваринами з діабетом, в яких корекція не проводилась, та достовірно не відрізнялась від аналогічного показника у контролі (рис. 4.4).

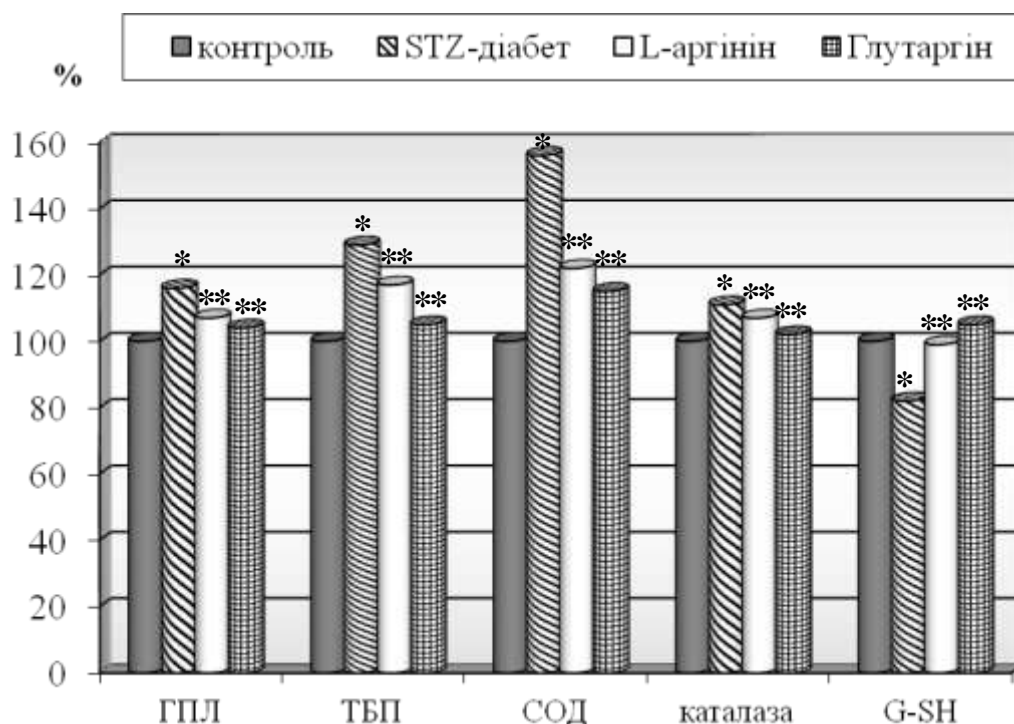


Рис. 4.4 Показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у нирках при STZ-діабеті та їх динаміка при введенні L-аргініну та глутаргіну.

Активність каталази при введенні L-аргініну була на такому ж рівні, як і в групі щурів з STZ-діабетом без корекції, а при застосуванні глютаргіну – меншою на 9 %, ніж у тварин з діабетом, та в останньому випадку не відрізнялась від контролю. При використанні попередників синтезу NO вміст GSH у нирковій тканині був більшим на 17 % під впливом L-аргініну та на 23 % – глютаргіну, з його відновленням в обох випадках до показника інтактних щурів (див. рис. 4.4).

Активність СДГ у нирках при застосуванні L-аргініну та глютаргіну була вищою на 18 % та 21 % відповідно, ніж аналогічні показники у тварин з STZ-діабетом, в яких корекція не проводилась. Активність ЦХО під впливом L-аргініну знижувалась на 7 %, при введенні глютаргіну зростала на 6 %, порівняно з групою щурів з діабетом (див. табл. 4.4). При цьому при застосуванні L-аргініну-L-глутамату активність обох мітохондріальних ферментів знаходилась на рівні показників у інтактних тварин, при введенні L-аргініну лише активність СДГ не відрізнялась від контролю.

При гістологічному дослідженні тканини нирок у тварин з STZ-діабетом на тлі введення L-аргініну-L-глутамату встановлено зменшення симптоматики ураження (рис. 4.5). У кірковій речовині нирок лише в окремих клубочках відмічались явища набряку, дистрофії ендотелію. У цих ниркових тільцях прослідковувалося пошкодження базальної мембрани судин. Наведені структурні зміни і сплющення вказаних клітин створювали мікроскопічно картину гіпотрофованих тілець. В окремих клубочках спостерігалась помірно виражена проліферація мезангіальних клітин. Проте переважна більшість клубочків мала звичайну структуру.

В епітелії проксимальних і дистальних каналців спостерігались слабо виражені дистрофічні явища, про що свідчило збільшення їх розмірів, що призводило до звуження просвіту каналців. Окремі каналці помірно розширювалися. В їх просвіті прослідковувалася незначна кількість десквамованих епітеліоцитів. В інтерстиційній тканині відмічались помірний набряк та осередки лімфо-гістіоцитарної інфільтрації стромальних елементів.

Перитубулярні гемокапіляри мозкової речовини нирки були помірно розширеними. При цьому спостерігалися осередки дистрофічно змінених ендотеліоцитів.

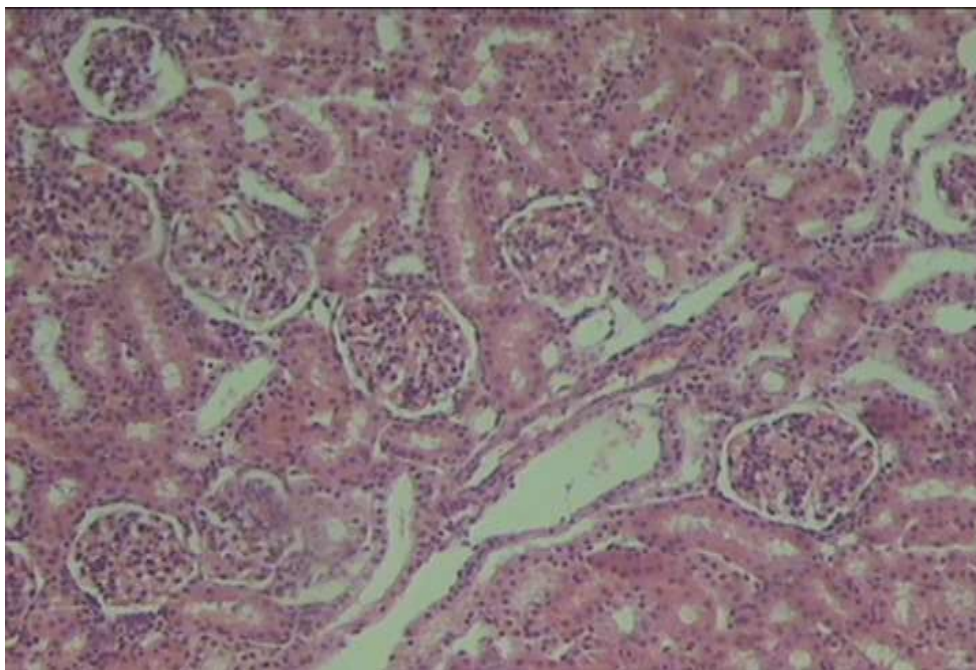


Рис. 4.5. Гістологічна структура нирки при STZ-діабеті та введенні глутаргіну. Слабо виражені дистрофічні зміни епітелію каналців, помірний набряк строми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 200.

Таким чином, прекурсори синтезу оксиду азоту, більшою мірою L-аргініну-L-глутамат, при їх введенні протягом 14 діб (з 15 по 28 добу експерименту) тваринам із стрептозотоциновим діабетом проявляють позитивний вплив на патогенетичні ланки ураження нирок, зменшуючи порушення у системах прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів, що відбувається на тлі активації в органі синтезу оксиду азоту. При застосуванні L-аргініну-L-глутамату відмічено покращання гістологічної будови нирок.

Отже, порівняльний аналіз показників, які характеризують зміни стану печінки та нирок під впливом прекурсорів синтезу NO – L-аргініну та глутаргіну (при їх введенні з 15 по 28 добу експерименту) доводить, що:

1. Попередник синтезу оксиду азоту L-аргінін при стрептозотоциновому діабеті сприяє зниженню рівня глікемії та покращанню стану печінки та нирок, що проявляється зменшенням вмісту гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів, зростанням активності та вмісту показників антиоксидантної системи та мітохондріального транспорту електронів у досліджуваних органах, зниженням рівнів біохімічних показників їх ураження у сироватці крові, що відбувається на тлі збільшення вмісту NO_2^- у печінці та нирках.

2. Прекурсор синтезу оксиду азоту глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) стимулює пригнічене при стрептозотоциновому діабеті утворення оксиду азоту, що супроводжується зростанням вмісту його стабільного метаболіту у печінці та нирках, сприяє зниженню рівня глюкози та вмісту маркерів ураження внутрішніх органів у сироватці крові.

3. Під впливом глутаргіну при стрептозотоциновому діабеті спостерігається зменшення проявів оксидативного стресу у печінці та нирках, що супроводжується відновленням до рівня інтактних тварин вмісту гідропероксидів ліпідів, активності та вмісту компонентів антиоксидантної системи та мітохондріального транспорту електронів у досліджуваних органах.

4. Глутаргін позитивно впливає на структурні ознаки ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті, що проявляється зниженням кількості дистрофічних та дистрофічно-некротичних змін печінкової паренхіми, появою клітинних макрофагів, нормалізацією структури гепатоцитів, особливо у середній частині печінкової часточки, у нирках – зменшенням у кірковій речовині явищ дистрофії ендотелію клубочків, набряку та лімфо-гістіоцитарної інфільтрації стромальних елементів інтерстиційної тканини.

Результати досліджень, викладені у даному розділі, знайшли відображення у таких друкованих працях [18, 23, 48, 64, 66, 69, 71, 72, 76, 80].

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ NO-СИНТАЗИ ПРИ ЇХ ЗАСТОСУВАННІ ПРОТЯГОМ
14 ДІБ НА ПАТОГЕНЕТИЧНІ ЛАНКИ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК
ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТИ

Метою досліджень, результати яких представлено у даному розділі, було встановлення, яким чином пригнічення синтезу оксиду азоту при блокаді різних ізоформ NO-синтази позначається на рівні загибелі та динаміці маси тіла тварин у процесі експерименту, стані системи прооксиданти-антиоксиданти та окиснювальних процесів у мітохондріях, рівні синтезу NO (за кількістю його стабільного метаболіту – NO_2^-) у печінці та нирках, на вмісті у крові глюкози, HbA1C, NO_2^- , біохімічних показниках, що характеризують стан печінки та нирок, гістологічній структурі досліджуваних органів.

Для порівняння використано різні інгібітори NO-синтази: неселективної дії – N-нітро-L-аргінін (блокує всі ізоформи даного ферменту, як конститутивні, так і індукцибельну) та блокатор лише індукцибельної ізоформи ферменту (iNOS) – аміногуанідин. При цьому виходили з того, що, відповідно до існуючих даних літератури, активація iNOS відіграє роль у патогенезі стрептозотоцинового цукрового діабету [42, 43]. Отже блокада індукцибельної ізоформи NO-синтази, ймовірно, може позитивно позначитись на змінах, які спостерігаються при даному патологічному процесі. Водночас пригнічення під впливом N-нітро-L-аргініну всіх ізоформ NO-синтази, в тому числі тих, які необхідні для нормального перебігу різноманітних фізіологічних процесів, повинно негативно вплинути на ці порушення.

Введення блокаторів NO-синтази розпочиналось через 2 тижні від початку моделювання патологічного процесу і тривало протягом наступних 2 тижнів (з 15 по 28 добу експерименту).

5.1 Вплив N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на динаміку маси тіла тварин та біохімічні показники у крові при стрептозотоциновому діабеті

Як свідчать отримані результати, представлені у табл. 5.1, при STZ-діабеті приріст маси тіла тварин за 28 діб експерименту відносно їх вихідної маси, хоча й становив 13 %, але статистично достовірна різниця між показниками середньої маси на початку та в кінці досліджу була відсутня. Під впливом N-нітро-L-аргініну маса тварин за 28 діб експерименту зменшувалась на 11 %, проте достовірно не відрізнялась від вихідного показника. Разом з тим, між динамікою маси тіла у цій групі та у щурів з STZ-діабетом спостерігалась достовірна різниця. Приріст маси тіла через 4 тижні досліджу в групі тварин, що отримували аміногуанідин, не відрізнявся від аналогічного показника у щурів із STZ-діабетом, які не отримували препаратів корекції.

Таблиця 5.1

Зміни маси тіла тварин у процесі експерименту при STZ-діабеті та під впливом блокаторів синтезу NO при їх призначенні протягом 2 тижнів

Група тварин	Маса тіла, г ($M \pm m$)		Зміна маси (%)	Достовірність різниці
	вихідна	через 28 діб		
Контроль	104,2±6,1	144,2±4,1	+38	$p' < 0,01$
STZ-діабет	117,5±6,7	132,5±3,4	+13	$p' > 0,05$ $p'' < 0,02$
STZ-діабет+ N-нітро-L- аргінін	116,7±3,9	104,2±4,6	-11	$p' > 0,05$ $p^\bullet < 0,01$
STZ-діабет+ аміногуанідин	126,7±15,7	142,5±11,8	+13	$p' > 0,05$ $p^\bullet > 0,05$

Примітка. Достовірність різниці: p' – між масою тіла на початку і в кінці досліджу; p'' – між зміною маси тіла за час експерименту при діабеті та аналогічним показником у контролі; p^\bullet – між зміною маси тіла за час експерименту у групі, де проводили корекцію, та аналогічним показником при діабеті.

У групі тварин, яким вводили N-нітро-L-аргінін, загибель щурів за час експерименту сягала 40 %, при застосуванні аміногуанідину цей показник становив 10 % (у групі тварин з STZ-діабетом, як зазначалося раніше, – 20 %).

Як свідчать дані, представлені у табл. 5.2, у випадку застосування N-нітро-L-аргініну рівень глюкози у сироватці крові залишався на рівні показника, зареєстрованого у групі тварин із STZ-діабетом, у яких корекція не проводилась, при введенні аміногуанідину – зменшувався на 32 %.

При введенні аміногуанідину вміст глікозильованого гемоглобіну був нижчим на 29 %, порівняно з його рівнем у тварин з STZ-діабетом. При корекції неселективним інгібітором NO-синтази цей показник проявляв лише тенденцію до зниження.

Таблиця 5.2

Параметри окремих біохімічних показників у крові щурів із STZ-діабетом та їх динаміка при корекції N-нітро-L-аргініном та аміногуанідином (M±m)

Показник	Група тварин			
	STZ-діабет (n=8)	STZ-діабет+ +N-нітро-L- аргінін (n=6)	STZ-діабет (n=8)	STZ-діабет+ + аміногуанідин (n=9)
Глюкоза, ммоль/л	19,58±1,63 p<0,001	19,31±1,44 p ₁ >0,05 p<0,001	21,79±1,01 p<0,001	14,70±0,44 p ₁ <0,001 p<0,001
НbA1C, абс. %	11,34±0,62 p<0,001	10,77±0,84 p ₁ >0,05 p<0,001	10,28±0,54 p<0,001	7,25±0,55 p ₁ <0,01 p<0,05
ТБП, ммоль/л	1,59±0,01 p<0,001	1,84±0,03 p ₁ <0,001 p<0,001	1,61±0,03 p<0,001	1,90±0,03 p ₁ <0,001 p<0,001
Каталаза, кат/л	6,31±0,30 p<0,02	9,13±0,23 p ₁ <0,001 p<0,001	6,69±0,17 p<0,001	7,95±0,19 p ₁ <0,01 p<0,001
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	2,31±0,07 p<0,001	1,55±0,05 p ₁ <0,001 p<0,01	2,38±0,05 p<0,01	1,82±0,05 p ₁ <0,001 p>0,05
Креатинін, мкмоль/л	58,03±1,49 p<0,02	61,16±1,13 p ₁ >0,05 p<0,001	56,94±1,08 p<0,02	60,95±0,42 p ₁ <0,02 p<0,001

Сечовина, ммоль/л	7,68±0,14 p<0,001	5,51±0,06 p ₁ <0,001 p>0,05	10,07±0,26 p<0,001	7,23±0,28 p ₁ <0,001 p>0,05
АлАТ, ммоль/(л·год)	–	–	1,19±0,03 p<0,001	1,35±0,02 p ₁ <0,01 p<0,001
АсАТ, ммоль/(л·год)	–	–	1,19±0,06 p<0,01	1,08±0,04 p ₁ >0,05 p<0,01
ЛФ, ммоль/л	–	–	2,65±0,08 p<0,001	2,54±0,19 p ₁ >0,05 p<0,01
Примітка. У цій та наступних таблицях даного розділу p – достовірність відносно контролю, p ₁ – відносно STZ-діабету.				

Під впливом інгібіторів синтезу оксиду азоту вміст у сироватці крові його стабільного метаболіту – NO₂⁻ був нижчим на 33 % при корекції N-нітро-L-аргініном та на 24 % – аміногуанідином, порівняно з відповідним показником у щурів з STZ-діабетом (див. табл. 5.2).

При застосуванні неселективного та селективного блокаторів NO-синтази вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові був більшим, ніж при STZ-діабеті, відповідно на 16 % та 18 %. У цих серіях дослідів була також вищою, порівняно з групою тварин з STZ-діабетом, в яких корекція не проводилась, активність каталази: на 45 % – при введенні N-нітро-L-аргініну та на 19 % – аміногуанідину (див. табл. 5.2).

При аналізі змін маркерних показників цитолізу та холестазу у сироватці крові під впливом аміногуанідину встановлено, що рівень АлАТ був більшим на 13 %, а вміст АсАТ та лужної фосфатази – не змінювався, порівняно з аналогічними показниками у групі тварин із стрептозотоциновим діабетом.

Вміст сечовини у сироватці крові при застосуванні обох блокаторів NOS знижувався на 28 %. Кількість креатиніну при введенні N-нітро-L-аргініну не змінювалась, а при застосуванні аміногуанідину на 7 % перевищувала відповідний показник у тварин з STZ-діабетом (див. табл. 5.2).

Таким чином, при аналізі результатів дослідження біохімічних показників сироватки крові експериментальних тварин із стрептозотоциновим діабетом, які протягом 2 тижнів (з 15 по 28 добу експерименту) отримували інгібітори синтезу оксиду азоту, встановлено, особливо при застосуванні N-нітро-L-аргініну, прогресування патологічних змін, порівняно з групою щурів з діабетом, в яких корекція не проводилась, що насамперед проявлялось подальшим зростанням вмісту ТБК-активних продуктів та активності каталази та відбувалось на тлі зменшення вмісту стабільного метаболіту NO – нітрит-аніону та сечовини. Водночас застосування аміногуанідину супроводжувалось зниженням рівнів у крові глюкози та глікозильованого гемоглобіну, порівняно з відповідними показниками при STZ-діабеті.

5.2 Вплив N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на патогенетичні ланки ураження печінки при стрептозотоциновому діабеті

Як свідчать отримані результати, N-нітро-L-аргінін та аміногуанідин при стрептозотоциновому цукровому діабеті спричиняли гальмування синтезу оксиду азоту у печінці. Цей вплив підтверджувався зменшенням у гомогенатах органа концентрації стабільного метаболіту NO – NO₂⁻ – на 43 % та на 25 % відповідно, порівняно з групою тварин із діабетом (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Показники стану печінки щурів при STZ-діабеті та їх динаміка при призначенні N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину (M+m)

Показники	Групи тварин			
	STZ-діабет	STZ-діабет+ + N-нітро-L- аргінін	STZ-діабет	STZ-діабет+ +аміно- гуанідин
ГПЛ, 103 ум.од. /кг	5,62±0,06 p<0,001	6,63±0,06 p ₁ <0,001 p<0,001	5,53±0,05 p<0,001	6,17±0,05 p ₁ <0,001 p<0,001
ТБЦ, ммоль/кг	7,80±0,19 p<0,001	9,53±0,08 p ₁ <0,001 p<0,001	8,44±0,30 p<0,001	8,85±0,28 p ₁ >0,05 p<0,001

СОД, ум.од.	2,82±0,07 p<0,001	3,22±0,09 p ₁ <0,02 p<0,001	2,74±0,06 p<0,001	3,05±0,06 p ₁ <0,02 p<0,001
Кат, кат/кг	14,52±0,26 p<0,05	15,97±0,24 p ₁ <0,01 p<0,01	15,09±0,48 p<0,05	15,1±0,16 p ₁ >0,05 p<0,01
G-SH, ммоль/кг	4,21±0,06 p<0,001	3,35±0,11 p ₁ <0,001 p<0,001	4,03±0,09 p<0,001	3,62±0,13 p ₁ <0,05 p<0,001
СДГ, ммоль/(кг·хв.)	6,79±0,22 p<0,01	9,02±0,25 p ₁ <0,001 p>0,05	7,09±0,20 p<0,01	8,71±0,27 p ₁ <0,01 p>0,05
ЦХО, ммоль/(кг·хв.)	5,06±0,14 p<0,01	4,76±0,07 p ₁ >0,05 p<0,001	4,85±0,10 p<0,001	4,75±0,01 p ₁ >0,05 p<0,001
NO ₂ ⁻ , мкмоль/кг	0,91±0,05 p<0,05	0,52±0,04 p ₁ <0,001 p<0,001	0,93±0,02 p<0,05	0,69±0,04 p ₁ <0,01 p<0,01

При застосуванні N-нітро-L-аргініну, меншою мірою аміногуанідину, в щурів з діабетом відмічено прогресування оксидативного стресу. У цих серіях дослідів у гомогенатах печінки вміст ГПЛ був більшим відповідно на 18 % та 12 %, порівняно з групою тварин з діабетом, в яких корекція не проводилась. Кількість ТБК-активних продуктів перевищувала рівень аналогічного показника при діабеті на 22 % при застосуванні неселективного інгібітора NO-синтази і залишалась без змін при введенні аміногуанідину (див. табл. 5.3).

При застосуванні N-нітро-L-аргініну активність СОД та каталази у тканині печінки була вищою на 14 % та 10 % відповідно, порівняно з аналогічними показниками у щурів з STZ-діабетом (рис. 5.1). При введенні аміногуанідину зростав лише рівень СОД на 11 %. Вміст GSH у печінці, навпаки, був нижчим відповідно на 20 % та 10 % при застосуванні N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину, порівняно з його кількістю у щурів з STZ-діабетом, в яких корекція не проводилась.

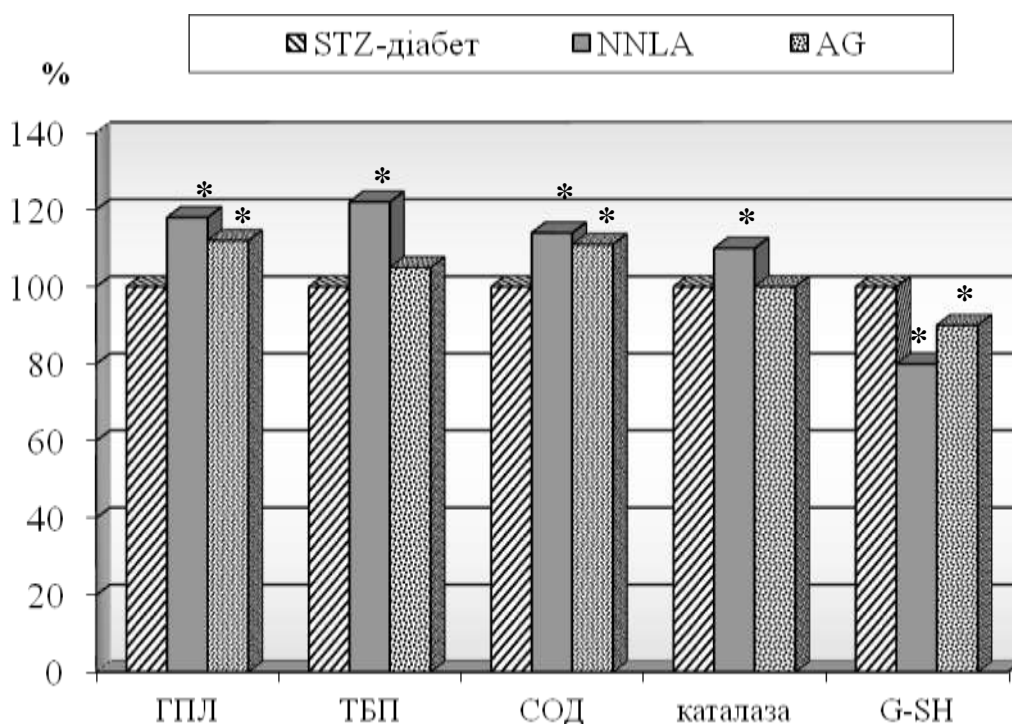


Рис. 5.1 Показники пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи у печінці при STZ-діабеті та їх динаміка при введенні N-нітро-L-аргініну (NNLA) та аміногуанідину (AG).

Примітка. У цьому і наступному рисунку даного розділу: * – достовірність відносно STZ-діабету; величина показників при STZ-діабеті прийнята за 100 %.

Неоднозначним виявився вплив N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину на ферменти мітохондрій (див. табл. 5.2). Активність СДГ у цих серіях дослідів була вищою відповідно на 33 % та 23 %, ЦХО – проявляла тенденцію до зниження, порівняно з аналогічними показниками у групі щурів з STZ-діабетом без корекції.

При вивченні гістологічної картини печінки на тлі застосування неселективного блокатора NO-синтази та її порівнянні зі змінами структури цього органа у тварин із стрептозотоциновим діабетом встановлено, що у щурів, яким протягом двох тижнів вводили N-нітро-L-аргінін, структурна перебудова печінки характеризувалася гострими або підгострими дистрофічними процесами (рис. 5.2). Останні частково переходили у некроз паренхіми різного ступеня. На місці некрозів гепатоцитів спостерігалось

вогнищеве формування сполучної тканини – спустошення печінкової паренхіми з порушенням нормальної структури. Проте в окремих полях зору печінкова паренхіма залишалася незміненою.

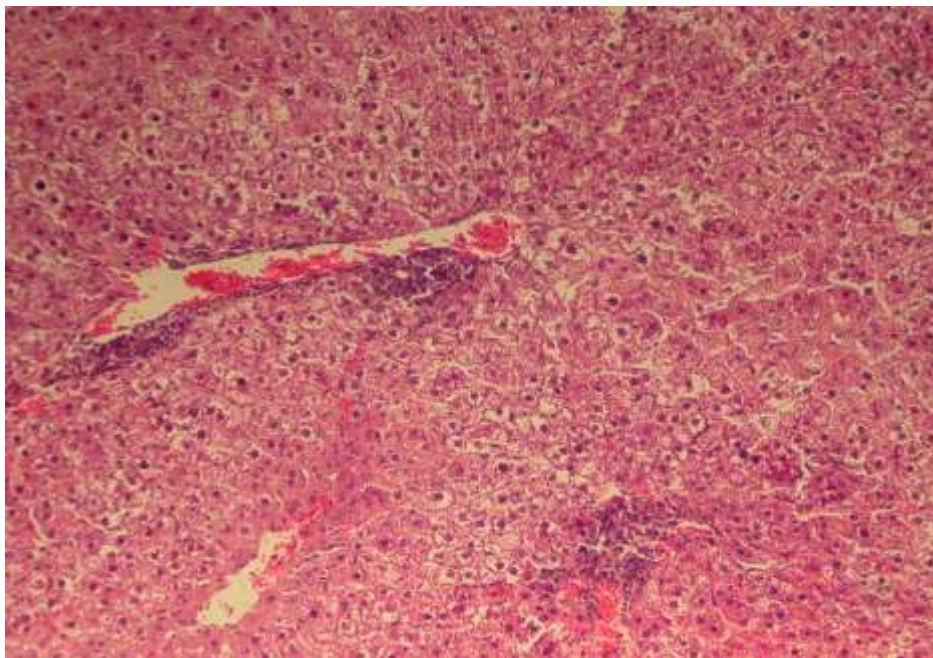


Рис. 5.2. Гістологічна структура печінки при STZ-діабеті та на тлі введення N-нітро-L-аргініну. Дифузні дистрофічні зміни гепатоцитів центральної та периферичної частини печінкової часточки, лімфо-гістіоцитарна інфільтрація портальних трактів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 200.

У тварин із стрептозотоциновим діабетом, які отримували N-нітро-L-аргінін, відмічалось порушення будови печінкової часточки. Центральні вени були помірно розширеними, просвіти синусоїдів не контурувалися. В останніх не спостерігалось еритроцитів, але вони містили незначну кількість макрофагів. Структура гепатоцитів була порушеною: клітини мали різні розміри із різними розмірами ядер. Межі між вказаними клітинами були нечіткими, розмитими. Серед дистрофічних змін переважала гіаліново-крапельна дистрофія, яка переходила у гідропічну. Вказані структурні зміни головним чином відмічалися у центролобулярних ділянках. У портальних трактах спостерігалася помірно

виражена лімфо-гістіоцитарна інфільтрація та ознаки холестазу, а також мало місце накопичення жовчних пігментів (див. рис. 5.2).

У щурів, які отримували аміногуанідин, патологічні зміни у печінці були виражені дещо менше, порівняно з попередньою групою спостережень (рис. 5.3). Світлооптично в мікропрепаратах на окремих ділянках печінкової паренхіми виявлялася білкова дистрофія гепатоцитів, яка призводила до часткової перебудови часточок, переважно монолобулярного типу. Відмічалися розширення і повнокрів'я центральних вен та синусоїдів, в окремих полях зору – запальні інфільтрати. Останні склалися із моноклеарних клітин, гістіоцитів та нейтрофільних лейкоцитів. У крайових зонах портальних полів виявлялося помірне розширення дрібних жовчних проток, що свідчило про наявність холестазів.

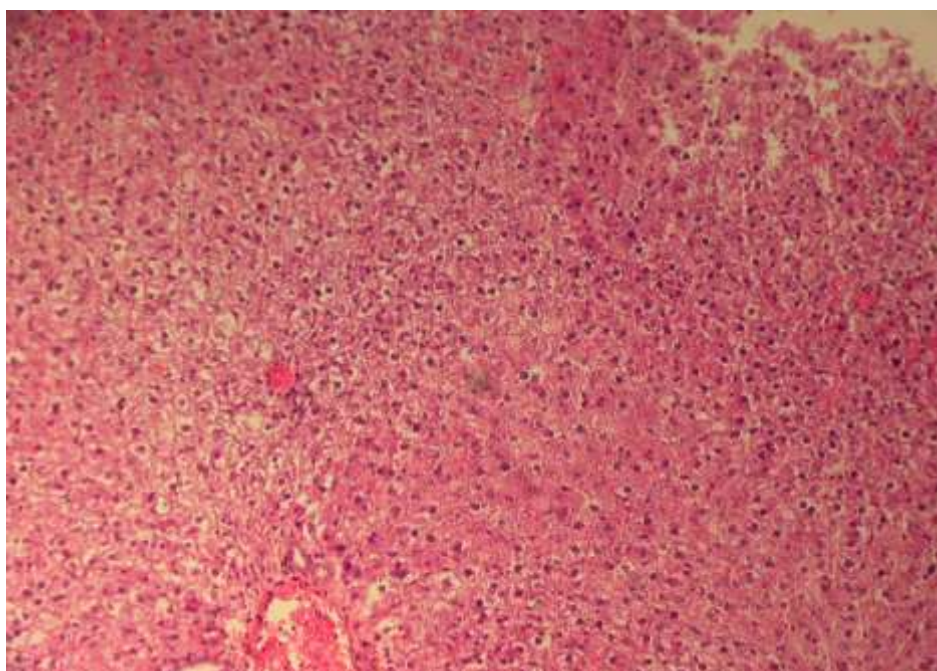


Рис. 5.3. Гістологічна структура печінки при STZ-діабеті та введенні аміногуанідину. набряк і дистрофія гепатоцитів, клітинна інфільтрація портальних трактів та гострі судинні розлади. Забарвлення гематоксилином та еозином. X 200.

У паренхімі печінки переважали запальні та дистрофічні зміни. Відмічалось також накопичення фібрину в синусоїдах печінки, в просторах Діссе, між гепатоцитами. Спостерігалися набухання та деструкція ендотеліоцитів синусоїдів, їх десквамація з оголенням синусоїдальної поверхні гепатоцитів. Місцями прослідковувалися гіперплазія і гіпертрофія зірчастих ретикулоендотеліоцитів, навантажених залишковими тілами та вакуолями з фібрином. В центролобулярних гепатоцитах переважали явища білкової гіаліново-крапельної дистрофії та некрозу.

Спостерігалось розширення та повнокрів'я центральних вен та синусоїдів. В них відмічались стази з великою кількістю еритроцитів (див. рис. 5.3). Портальні тракти були густо інфільтровані лімфоцитами та гістіоцитами. Жовчні протоки були дещо розширеними із вмістом жовчних пігментів.

Таким чином, блокатори синтезу оксиду азоту, особливо неселективний інгібітор всіх ізоформ NO-синтази N-нітро-L-аргінін, при їх введенні протягом 14 діб (з 15 по 28 добу досліду) тваринам із стрептозотоциновим діабетом проявляють негативний вплив на патогенетичні ланки ураження печінки, поглиблюючи порушення у системах прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів, що відбувається на тлі пригнічення утворення у печінці стабільного метаболіту оксиду азоту, що опосередковано свідчить про зменшення синтезу NO. При гістологічному дослідженні печінки тварин із STZ-діабетом на тлі застосування аміногуанідину та, більшою мірою, N-нітро-L-аргініну відмічено прогресування структурних ознак ураження органа, порівняно з групою щурів з діабетом, в яких корекцію не проводили.

5.3 Вплив N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 2 тижнів експерименту на патогенетичні ланки ураження нирок при стрептозотоциновому діабеті

Як свідчать представлені у табл. 5.4 дані, введення N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину тваринам із стрептозотоциновим діабетом супроводжувалось

наростанням вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів в нирках на тлі зменшення концентрації NO_2^- у цьому органі. Вміст стабільного метаболіту NO при застосуванні N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину був відповідно на 37 та 29 % меншим, ніж у тварин з STZ-діабетом, які не отримували засобів корекції.

Таблиця 5.4

Показники стану нирок щурів при STZ-діабеті та їх динаміка при призначенні N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину (M+m)

Показник	Група тварин			
	STZ-діабет	STZ-діабет+ + N-нітро-L- аргінін	STZ-діабет	STZ-діабет+ +аміно- гуанідин
ГПЛ, 103 ум. од. /кг	4,33±0,06 p<0,001	5,39±0,06 p ₁ <0,001 p<0,001	4,28±0,04 p<0,001	4,93±0,05 p ₁ <0,001 p<0,001
ТБП, ммоль/кг	2,30±0,02 p<0,001	2,70±0,06 p ₁ <0,001 p<0,001	2,41±0,03 p<0,001	1,98±0,02 p ₁ <0,001 p>0,05
СОД, ум. од.	1,86±0,05 p<0,001	2,47±0,05 p ₁ <0,001 p<0,001	1,87±0,06 p<0,001	2,34±0,04 p ₁ <0,001 p<0,001
Кат, кат/кг	10,91±0,39 p>0,05	11,35±0,29 p ₁ >0,05 p<0,05	10,93±0,13 p<0,02	10,19±0,29 p ₁ <0,05 p>0,05
G-SH, ммоль/ кг	3,03±0,13 p<0,02	2,45±0,09 p ₁ <0,01 p<0,001	2,99±0,06 p<0,001	2,63±0,04 p ₁ <0,01 p<0,001
СДГ, ммоль/(кг·хв)	6,13±0,18 p<0,01	7,85±0,16 p ₁ <0,001 p>0,05	6,03±0,23 p<0,01	7,65±0,10 p ₁ <0,001 p>0,05
ЦХО, ммоль/(кг·хв.)	4,59±0,06 p<0,01	4,09±0,09 p ₁ <0,01 p<0,001	4,58±0,06 p<0,001	4,19±0,04 p ₁ <0,01 p<0,001
NO ₂ ⁻ , мкмоль/кг	1,02±0,05 p<0,05	0,64±0,05 p ₁ <0,01 p<0,001	1,04±0,02 p<0,001	0,74±0,04 p ₁ <0,001 p<0,001

У цих серіях дослідів у гомогенатах нирок, при порівнянні з групою щурів із STZ-діабетом, відмічено збільшення вмісту ГПЛ на 25 % при застосуванні

N-нітро-L-аргініну та на 15 % – аміногуанідину. Вміст ТБК-активних продуктів при введенні неселективного блокатора NOS перевищував відповідний показник у групі тварин з діабетом без корекції на 18 %, але зменшувався на 18 % під впливом аміногуанідину, причому в останньому випадку цей показник не відрізнявся від контролю (див. табл. 5.4). При застосуванні N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину активність СОД була вищою, ніж у тварин з діабетом, відповідно на 33 % та 25 %. Активність іншого ферменту антиоксидантної системи – каталази при введенні неселективного блокатора NOS не змінювалась, порівняно з цим показником у щурів з STZ-діабетом, при застосуванні селективного інгібітора була нижчою на 7 % (рис. 5.4). При застосуванні N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину відмічено менший, ніж у групі тварин з діабетом без корекції, вміст GSH у гомогенатах нирок (відповідно на 19 % та 12 %).

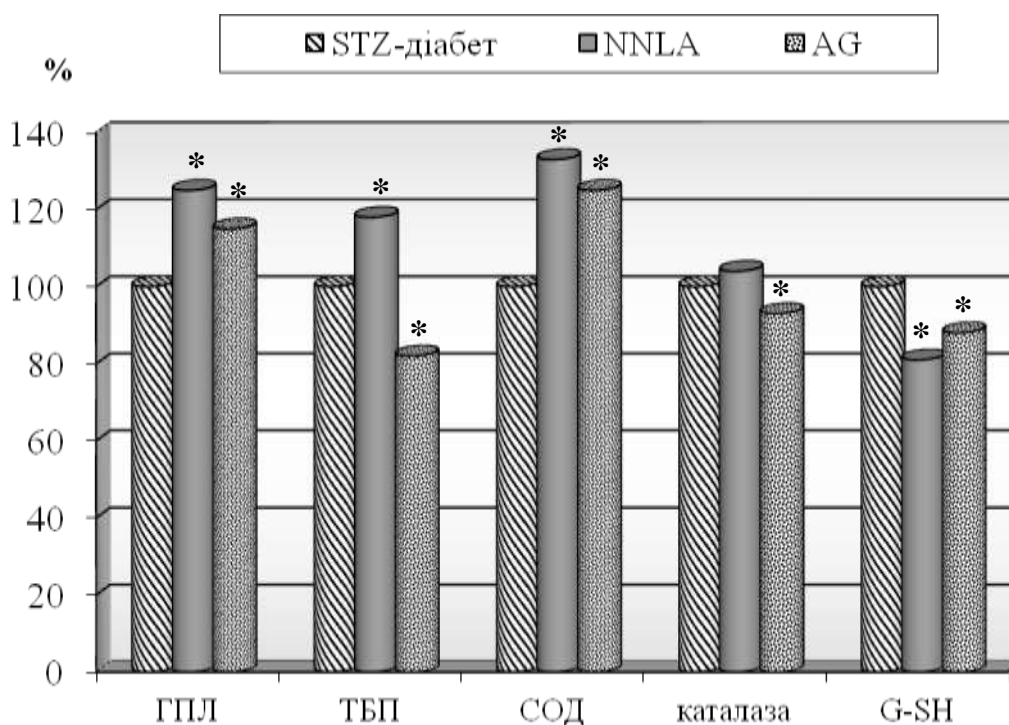


Рис. 5.4 Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у нирках при STZ-діабеті та їх динаміка при введенні N-нітро-L-аргініну (NNLA) та аміногуанідину (AG).

При вивченні компонентів електронно-транспортного ланцюга мітохондрій встановлено, що на тлі введення N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину щурам з STZ-діабетом активність СДГ у гомогенатах нирок була вищою на 28 % та на 27 % відповідно, ніж у тварин з діабетом, причому цей показник в обох випадках не відрізнявся від відповідного параметра у контролі. Активність ЦХО, на протилежність цьому, була нижчою на 11 % та на 9 %, ніж у щурів з STZ-діабетом (див. табл. 5.4).

При введенні N-нітро-L-аргініну тваринам з STZ-діабетом гістологічно відмічено прогресування патологічних змін, як у тубулярному, так і в гломерулярному апараті нирки, порівняно з щурами, в яких не проводилася корекція змодельованої патології (рис. 5.5).

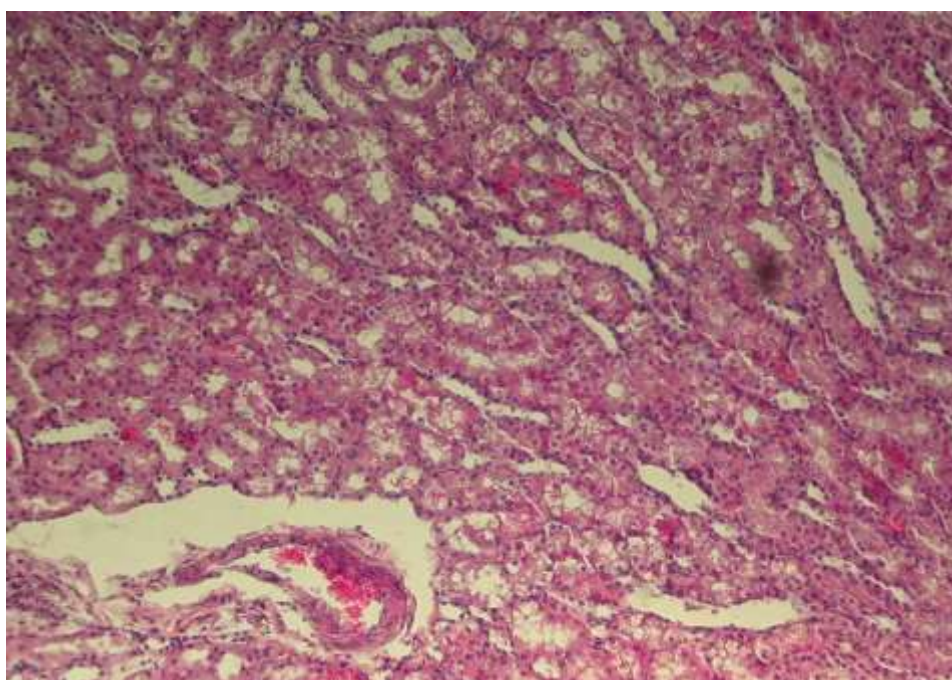


Рис. 5.5 Гістологічна структура нирки тварини при STZ-діабеті та введенні N-нітро-L-аргініну. Дифузні дистрофічно-некротичні зміни епітеліоцитів каналців. Забарвлення гематоксилином та еозином. X 200.

У кірковій речовині нирки переважали гіпертрофовані клубочки, хоча зустрічались і атрофовані. При цьому у просвітах капсул, окрім набряку, часто відмічались білкові депозити, які спричиняли їх розширення. Судини клубочка

розширювались, містили еритроцити. Ендотеліоцити були з явищами набряку та ознаками білкової дистрофії. Базальні мембрани потовщувались, були набряклими. Спостерігались ознаки гіаліново-крапельної дистрофії епітеліоцитів проксимальних каналців. Частина цих клітин десквамувалася і локалізувалася у просвітах каналців (див. рис. 5.5).

Пошкодження судин мікрогемодинамічного русла у цій серії носило генералізований характер і стосувалося як внутрішньосудинних розладів в самих клубочках, так і в стромальних елементах. Спостерігалися синдроми сладжування і тромбування мікросудин, що призводило до видимих мікроскопічних змін, особливо в тубулярному апараті. Так, в епітеліоцитах проксимальних каналців відмічалися явища гідропічної дистрофії, що призводило до звуження їх просвітів. При цьому виявлялося дифузне розширення мікросудин та перитубулярних просторів із множинними стазами в гемокапілярах та дифузними діapedезними крововиливами (див. рис. 5.5).

Ниркові клубочки повністю або майже повністю були втягнуті в патологічний процес. У просвітах капсул, а також між петлями судинного клубочка виявлявся фібрин. При цьому петлі капілярів виглядали набряклими, з потовщеними стінками і звуженим просвітом. Мезангіальний матрикс помітно збільшувався в просвіті. В окремих полях зору спостерігали зникнення нормального клубочкового малюнка, що характеризувалось підсиленням контурованості стінок капілярів, а в їх просвітах виявлялися лейкоцити. В окремих випадках пошкодження нирок були настільки глибокими, що лише в окремих ділянках мікропрепаратів вдавалося виявити поодинокі каналці. Епітеліоцити лише в загальних характеристиках зберігали свою структуру.

На тлі введення аміногуанідину, при порівнянні з гістологічною картиною нирок у тварин з STZ-діабетом, які не отримували корекції, патологічні зміни у клубочковому апараті нирок зберігалися (рис. 5.6). Переважали явища ексудації. В окремих клубочках спостерігалися дистрофічні зміни, як в мезангіальних, так і в ендотеліальних клітинах. Петлі окремих капілярів збільшувалися в розмірах, що мікроскопічно відповідало гіпертрофії

судинних клубочків, яка виникала, очевидно, за рахунок дистрофічних змін в базальних мембранах, ендотелії, помірного звуження просвіту гемокапілярів та накопичення фібрину між петлями цих мікросудин.

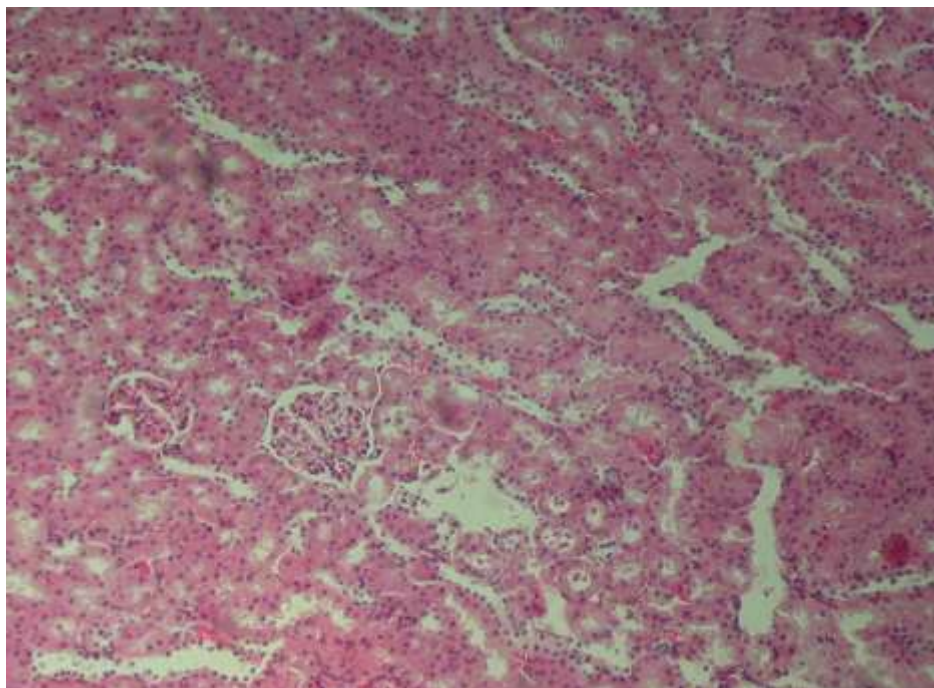


Рис. 5.6 Гістологічна структура нирки тварини при STZ-діабеті та введенні аміногуанідину. Дифузні дистрофічні зміни епітелію канальців, ексудативне запалення клубочків. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 200.

Істотно змінювалася структура окремих клубочків. Зникав їх нормальний рисунок, а в просвітах судин відмічалися поодинокі лейкоцити. Просвіт капсули при цьому збільшувався за рахунок набряку (див. рис. 5.6).

Таким чином, блокатори синтезу оксиду азоту, насамперед неселективний інгібітор NO-синтази N-нітро-L-аргінін при їх введенні протягом 14 діб тваринам із стрептозотоциновим діабетом (з 15 по 28 добу дослідження) проявляють негативний вплив на патогенетичні ланки ураження нирок, що проявляється поглибленням порушень у системах прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів та відбувається на тлі пригнічення утворення у нирках стабільного метаболіту оксиду азоту, що опосередковано

свідчить про зменшення синтезу NO. При гістологічному дослідженні нирок при застосуванні N-нітро-L-аргініну та, меншою мірою, аміногуанідину відмічено прогресування структурних ознак ураження органа, порівняно з тваринами з STZ-діабетом, які не отримували засоби корекції.

Проведені дослідження впливу блокаторів NO-синтази неселективної (N-нітро-L-аргінін) та селективної (аміногуанідин) дії на показники, які характеризують стан печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті, свідчать, що:

1. N-нітро-L-аргінін при його введенні протягом 14 діб (з 15 по 28 добу досліду) при стрептозотоциновому діабеті викликає зменшення вмісту NO_2^- у внутрішніх органах та сироватці крові, подальше прогресування проявів оксидативного стресу у печінці та нирках, порівняно з групою щурів з STZ-діабетом, частково покращує функцію електронно-транспортного ланцюга мітохондрій (сприяє зростанню активності сукцинатдегідрогенази, але зменшенню цитохромоксидази), не впливає на вміст глюкози та глікозильованого гемоглобіну, викликає збільшення вмісту ТБК-активних продуктів та активності каталази у сироватці крові.

2. N-нітро-L-аргінін у тварин із стрептозотоциновим діабетом спричиняє суттєве прогресування структурних ознак ураження досліджуваних внутрішніх органів, що проявляється: у печінці – гострими або підгострими токсикодистрофічними процесами у вигляді гідропічної та балонної дистрофії, вогнищевими або зливними некрозами гепатоцитів, вогнищевим формуванням сполучної тканини, розширенням жовчних проток, проліферацією фібробластів навколо порталних трактів; у нирках – генералізованим пошкодженням мікроциркуляторного русла (в клубочках та в стромальних елементах), частковим зникненням нормального клубочкового та каналцевого малюнків, дифузним розширенням перитубулярних просторів із множинними стазами в гемокапілярах та діapedезними крововиливами.

3. Ступінь негативного впливу аміногуанідину (інгібітора індукцибельної NO-синтази) на стан внутрішніх органів при його введенні протягом 14 діб

(з 15 по 28 добу досліду) тваринам зі стрептозотоциновим діабетом є меншим, ніж у N-нітро-L-аргініну, проте, порівняно з групою щурів, у яких корекція не проводилась, він викликає зниження вмісту NO_2^- у печінці, нирках та сироватці крові, деяке прогресування процесів вільнорадикального окиснення, лише частково зменшує порушення у системах прооксиданти–антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів, що спостерігається на тлі збереження структурних ознак ураження досліджуваних органів: у печінці – дистрофічних змін паренхіми, клітинної інфільтрації порталних трактів та гострих розладів кровообігу, у нирках – дифузних дистрофічних змін епітелію каналців, ексудативного запалення клубочків.

4. Аміногуанідин при його введенні експериментальним тваринам із стрептозотоциновим діабетом протягом 2 тижнів сприяє зниженню рівнів глюкози та глікозильованого гемоглобіну в крові, порівняно з відповідними показниками у групі щурів з діабетом, які не отримували засоби корекції.

Результати досліджень, викладені у даному розділі, знайшли відображення у таких друкованих працях [23, 48, 50, 65, 68, 70-72, 76].

РОЗДІЛ 6

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ L-АРГІНІНУ-L-ГЛУТАМАТУ ТА АМІНОГУАНІДИНУ НА ПАТОГЕНЕЗ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТИ У ВИПАДКУ ЇХ ОКРЕМОГО ВВЕДЕННЯ ПРОТЯГОМ 4 ТИЖНІВ ТА ПРИ ЇХ КОМБІНОВАНОМУ ЗАСТОСУВАННІ ПРОТЯГОМ 2 ТИЖНІВ

6.1 Особливості впливу попередника та блокатора синтезу оксиду азоту при їх окремому застосуванні протягом 4 тижнів експерименту на стан печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті

Метою досліджень, результати яких представлено у підрозділі 6.1, було встановлення особливостей впливу попередника синтезу оксиду азоту L-аргініну-L-глутамату (глутаргіну) та блокатора індукцибельної ізоформи NO-синтази аміногуанідину на стан печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті за умови, що введення модуляторів утворення NO розпочиналось через 24 год після моделювання STZ-діабету та проводилось протягом усього періоду розвитку досліджуваної патології (з 2 по 28 добу експерименту). При цьому виходили з даних літератури про ключову роль NO та пероксинітриту в ініціації ураження β -клітин острівців Лангерганса підшлункової залози при стрептозотоциновому діабеті [42, 43]. Отже, можна було очікувати, що попередник утворення NO L-аргініну-L-глутамат, якщо розпочинати його введення на стадії ураження острівцевого апарату підшлункової залози стрептозотоцином, здатен погіршити стан печінки та нирок, блокатор індукцибельної NO-синтази у цих умовах повинен, навпаки, зменшувати ступінь їх ураження.

6.1.1 Вплив L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 4 тижнів експерименту на динаміку маси тіла тварин та біохімічні показники у крові при стрептозотоциновому діабеті

Як видно з даних, представлених у табл. 6.1, при STZ-діабеті приріст маси тіла тварин за 28 діб експерименту відносно їх вихідної маси склав 14 %, хоча, за відсутності достовірної різниці між цим показником у першу і останню добу досліджу, можна говорити лише про тенденцію до його збільшення.

Таблиця 6.1

Зміни маси тіла тварин у процесі експерименту при STZ-діабеті та під впливом глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому призначенні протягом 4-тижнів

Група тварин	Маса тіла, г ($M \pm m$)		Зміна маси (%)	Достовірність різниці
	вихідна	через 28 діб		
Контроль	114,2 \pm 9,6	153,3 \pm 8,6	+34	$p' < 0,05$
STZ-діабет	113,3 \pm 6,6	129,2 \pm 6,2	+14	$p' > 0,05$ $p'' < 0,05$
STZ-діабет+ глутаргін	122,5 \pm 10,6	160,8 \pm 10,8	+31	$p' < 0,05$ $p \bullet < 0,02$
STZ-діабет+ аміногуанідин	121,7 \pm 9,7	150,8 \pm 7,3	+24	$p' > 0,05$ $p \bullet > 0,05$

Примітка. Достовірність різниці: p' – між масою тіла на початку і в кінці досліджу; p'' – між зміною маси тіла за час експерименту при діабеті та аналогічним показником у контролі; $p \bullet$ – між зміною маси тіла за час експерименту у групі, де проводили корекцію, та аналогічним показником при діабеті.

При застосуванні у щурів зі STZ-діабетом глутаргіну їх маса за 28 діб експерименту зросла на 31 %. У цій групі статистично достовірна різниця спостерігалась як між середньою масою тіла тварин на початку та в кінці досліджу, так і між аналогічним показником при стрептозотоциновому діабеті.

При корекції аміногуанідином спостерігалось збільшення маси тіла тварин за час експерименту на 24 %, проте статистично середня маса тіла у цій групі не відрізнялась на початку та в кінці експерименту, а її приріст достовірно не відрізнявся від відповідного показника у тварин з STZ-діабетом (див. табл. 6.1).

Якщо у групі тварин з STZ-діабетом рівень загибелі протягом експерименту становив 20 %, то у серії, де щури отримували 28 діб L-аргініну-L-глутамат, загибелі не було, при застосуванні аміногуанідину загинуло 10 % тварин.

При дослідженні біохімічних показників сироватки крові при стрептозотоциновому діабеті та на тлі 4-тижневого застосування L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину встановлено, що вміст глюкози та HbA1C був меншим, ніж у групі щурів з діабетом без корекції, відповідно на 25 % і 11 % – при введенні глутаргіну та на 16 % і 15 % – аміногуанідину (табл. 6.2). Вказані зміни поєднувались із збільшеним вмістом у сироватці крові тварин, які отримували глутаргін, стабільного метаболіту NO – NO₂⁻ – на 18 %, порівняно із щурами з STZ-діабетом, в яких корекція не проводилась. При застосуванні аміногуанідину аналогічний показник, навпаки, був на 26 % нижчим, ніж у тварин з діабетом. Активність каталази при корекції глутаргіном була на 34 % нижчою, порівняно з STZ-діабетом, причому цей показник не відрізнявся від групи контролю. При введенні аміногуанідину активність даного ферменту знаходилась на рівні відповідного параметра у тварин з STZ-діабетом (табл. 6.2).

У групі щурів, які протягом 28 діб отримували L-аргініну-L-глутамат, активність АлАТ, лужної фосфатази сироватки крові та тимолова проба були нижчими відповідно на 15, 44 та 24 %, ніж при STZ-діабеті без корекції, та не відрізнялись від аналогічних параметрів контролю. Активність АсАТ у групі тварин, яким вводили глутаргін, залишалась на рівні цього показника у щурів з діабетом без корекції (табл. 6.2).

Параметри біохімічних показників у крові щурів із STZ-діабетом та їх динаміка під впливом L-аргініну-L-глутамату і аміногуанідину при їх окремому призначенні протягом 28 діб експерименту (M±m)

Показник	Група тварин			
	Контроль (n=6)	STZ-діабет (n=8)	STZ-діабет + глутаргін (n=10)	STZ-діабет + аміногуанідин (n=9)
Глюкоза, ммоль/л	5,92±0,17	17,48±0,26 p<0,001	13,19±0,32 p ₁ <0,001 p<0,001	14,75±0,31 p ₁ <0,001 p<0,001
НьА1С, абс. %	5,83±0,17	12,88±0,45 p<0,001	11,47±0,32 p ₁ <0,05 p<0,001	10,95±0,45 p ₁ <0,05 p<0,001
Кат, кат/л	4,29±0,17	6,36±0,21 p<0,001	4,18±0,29 p ₁ <0,001 p>0,05	6,10±0,37 p ₁ >0,05 p<0,01
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	2,03±0,06	2,60±0,07 p<0,001	3,08±0,08 p ₁ <0,001 p<0,001	2,29±0,10 p ₁ <0,05 p>0,05
Креатинін, мкмоль/л	51,00±0,80	56,50±0,73 p<0,01	48,00±1,09 p ₁ <0,001 p>0,05	57,50±0,68 p ₁ >0,05 p<0,001
Сечовина, ммоль/л	4,57±0,10	6,70±0,28 p<0,001	4,60±0,19 p ₁ <0,001 p>0,05	5,42±0,23 p ₁ <0,02 p<0,02
АлАТ, ммоль/(л·год)	0,87±0,05	1,17±0,05 p<0,01	1,00±0,04 p ₁ <0,05 p>0,05	1,28±0,08 p ₁ >0,05 p<0,01
АсАТ, ммоль/(л·год)	0,85±0,06	1,21±0,08 p<0,02	1,16±0,02 p ₁ >0,05 p<0,01	1,16±0,12 p ₁ >0,05 p<0,05
ЛФ, ммоль/л	1,58±0,05	2,57±0,14 p<0,001	1,45±0,03 p ₁ <0,001 p>0,05	1,93±0,10 p ₁ <0,02 p<0,02
Тимолова проба, од. д.	1,15±0,02	1,48±0,05 p<0,01	1,12±0,06 p ₁ <0,01 p>0,05	1,35±0,07 p ₁ >0,05 p<0,05

Примітка. У цій та наступних таблицях підрозділу 6.1 достовірність позначено:
p – відносно контролю, p₁ – відносно STZ-діабету.

При застосуванні аміногуанідину активність амінотрансфераз у сироватці крові та тимолова проба достовірно не відрізнялись від аналогічних показників у групі щурів з STZ-діабетом. Лише рівень лужної фосфатази у цій серії був на 25 % меншим, ніж у тварин з діабетом, в яких не здійснювали корекцію.

При застосуванні глутаргіну показники вмісту сечовини та креатиніну у сироватці крові знаходились на рівні контрольних значень. На протилежність цьому, при 4-тижневому введенні аміногуанідину вміст сечовини у сироватці крові був нижчим на 19 %, ніж у тварин з діабетом, вміст креатиніну не відрізнявся від показника останньої групи (див. табл. 6.2).

Таким чином, L-аргініну-L-глутамат, при його призначенні протягом 28 діб експерименту тваринам з STZ-діабетом, попереджував загибель тварин, сприяв нормалізації приросту маси їх тіла за час спостереження та біохімічних показників сироватки крові, які є маркерами ураження печінки та нирок. При 4-тижневому застосуванні блокатора iNOS аміногуанідину при нижчому рівні загибелі щурів, порівняно з нелікованими тваринами, була відсутня достовірна різниця між динамікою маси тіла тварин у цій групі і при STZ-діабеті, а більшість досліджуваних біохімічних показників сироватки крові у цій серії не відрізнялись від аналогічних параметрів у групі щурів з діабетом, за винятком вмісту глюкози, HbA1C та NO_2^- , який був меншим, ніж у групі тварин з STZ-діабетом без корекції.

6.1.2 Особливості впливу L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 4 тижнів експерименту на стан печінки при стрептозотоциновому діабеті

Як свідчать результати проведених досліджень, представлені у табл. 6.3, у тварин, які отримували L-аргініну-L-глутамат (глутаргін) протягом 4 тижнів, вміст ГПЛ та ТБК-активних продуктів у печінці був меншим відповідно на 21 % та 43 %, порівняно з групою тварин, в яких корекція не проводилась, і не відрізнявся від рівня інтактних щурів.

Показники стану печінки щурів при STZ-діабеті та їх динаміка під впливом глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому призначенні протягом 28 діб (M±m)

Показник	Група тварин			
	Контроль (n=6)	STZ-діабет (n=8)	STZ-діабет + глутаргін (n=10)	STZ-діабет + аміногуанідин (n=9)
ГПЛ, 103 ум.од. /кг	4,38±0,03	5,58±0,05 p<0,001	4,42±0,04 p ₁ <0,001 p>0,05	5,94±0,13 p ₁ <0,05 p<0,001
ТБП, ммоль/кг	4,83±0,12	8,18±0,33 p<0,001	4,66±0,18 p ₁ <0,001 p>0,05	8,80±0,10 p ₁ >0,05 p<0,001
СОД, ум.од.	2,30±0,08	2,93±0,07 p<0,001	2,31±0,06 p ₁ <0,001 p>0,05	2,84±0,02 p ₁ >0,05 p<0,001
Кат, кат/кг	12,37±0,35	14,65±0,41 p<0,01	12,39±0,28 p ₁ <0,01 p>0,05	14,52±0,23 p ₁ <0,01 p<0,01
G-SH, ммоль/кг	5,31±0,08	3,95±0,10 p<0,001	5,41±0,15 p ₁ <0,001 p>0,05	3,75±0,14 p ₁ >0,05 p<0,001
СДГ, ммоль/(кг·хв.)	8,69±0,16	7,19±0,26 p<0,01	8,51±0,23 p ₁ <0,01 p>0,05	8,66±0,22 p ₁ <0,01 p>0,05
ЦХО, ммоль/(кг·хв.)	5,86±0,13	4,98±0,06 p<0,001	5,55±0,15 p ₁ <0,02 p>0,05	4,75±0,01 p ₁ <0,001 p<0,001
NO ₂ ⁻ , мкмоль/кг	1,23±0,08	1,01±0,03 p<0,05	1,72±0,08 p ₁ <0,001 p<0,01	0,73±0,03 p ₁ <0,001 p<0,01

Інші закономірності встановлено при дослідженні пероксидного окиснення ліпідів у тварин, які отримували аміногуанідин з 2 по 28 добу патологічного процесу. У цій серії експериментів у печінці вміст ГПЛ був на 6 % більшим, а вміст ТБК-активних продуктів не відрізнявся від рівня цього показника у щурів з STZ-діабетом (див. табл. 6.3).

Зареєстровано позитивний вплив L-аргініну-L-глутамату і на активність та вміст компонентів антиоксидантної системи. Зокрема, активність СОД та каталази була нижчою на 21 % та 15 % відповідно, а вміст GSH був більшим на 37 %, порівняно з групою тварин з діабетом, причому зазначені показники не відрізнялись від аналогічних величин у контролі. При введенні аміногуанідину активність СОД, каталази, вміст відновленого глутатіону у печінці знаходились на рівні відповідних показників у групі щурів з STZ-діабетом (рис. 6.1).

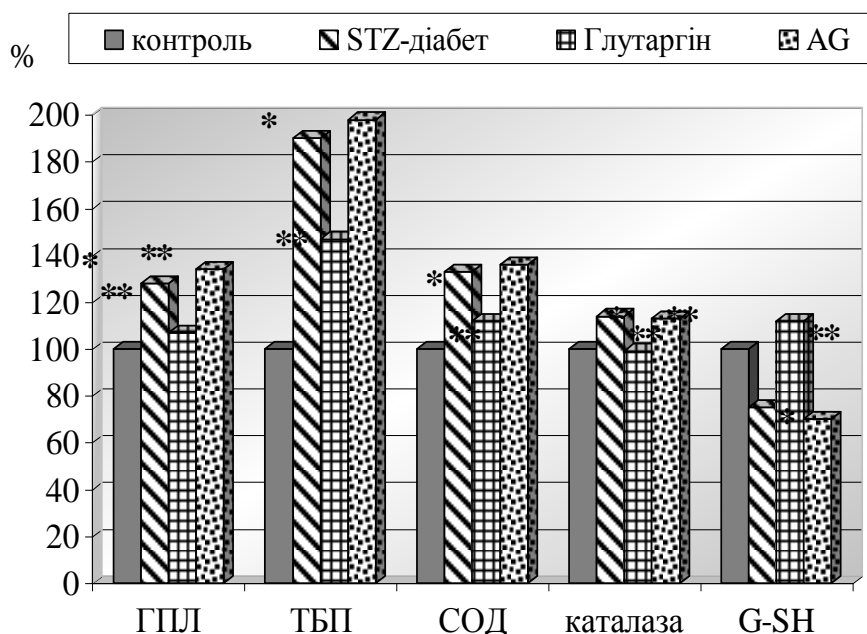


Рис. 6.1 Зміни показників систем прооксиданти-антиоксиданти у печінці при STZ-діабеті і введенні глутаргіну та аміногуанідину з 2 по 28 добу експерименту.

Примітка. У цьому і наступному рисунках даного розділу достовірність позначено: * – відносно контролю, ** – відносно STZ-діабету; величина показників у контролі прийнята за 100 %.

При застосуванні L-аргініну-L-глутамату активність СДГ та ЦХО була вищою на 18 % та 12 %, порівняно з групою STZ-діабету без корекції, та не відрізнялась від аналогічних показників в інтактних щурів. При введенні аміногуанідину спостерігалась збільшена активність СДГ у печінці, порівняно з

аналогічним параметром у щурів з діабетом, але мала місце тенденція до зниження активності ЦХО (див. табл. 6.3).

Вказані позитивні зміни показників, які характеризують стан печінки, на тлі застосування L-аргініну-L-глутамату супроводжувались активацією синтезу оксиду азоту, про що свідчило зростання кількості його стабільного метаболіту у печінці, яка була більшою на 71 %, порівняно з групою тварин з діабетом, в яких корекцію не проводили. При введенні блокатора індуцибельної NOS вміст NO_2^- у тканині печінки, навпаки, був меншим на 28 %, порівняно з цим показником у тварин з STZ-діабетом (див. табл. 6.3).

Таким чином, при 4-тижневому застосуванні L-аргініну-L-глутамату при стрептозотоциновому діабеті більшість показників систем прооксиданти-антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці не відрізнялись від аналогічних параметрів у контрольній групі тварин. Зазначений позитивний вплив препарату реалізувався на тлі стимуляції синтезу оксиду азоту, про що свідчило наростання кількості його стабільного метаболіту у тканині печінки. При 4-тижневому введенні блокатора iNOS аміногуанідину більшість досліджуваних біохімічних показників стану печінки не відрізнялись від аналогічних параметрів у групі тварин з STZ-діабетом, за винятком вмісту NO_2^- , який був нижчим, ніж при діабеті без корекції.

6.1.3 Особливості впливу L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину у випадку їх окремого призначення протягом 4 тижнів експерименту на стан нирок при стрептозотоциновому діабеті

Як свідчать результати проведених досліджень, представлені у табл. 6.4, введення тваринам з STZ-діабетом L-аргініну-L-глутамату (глутаргіну) протягом 4 тижнів позначалось на активності пероксидного окиснення ліпідів: вміст у нирках ГПЛ та ТБК-активних продуктів був нижчим на 12 % та 26 % відповідно, порівняно з цими показниками у щурів з STZ-діабетом, в яких корекція не проводилась. При застосуванні селективного блокатора iNOS

аміногуанідину вміст ГПЛ та ТБК-активних продуктів у нирках був, навпаки, більшим на 12 % та 16 % відповідно, порівняно з цими параметрами при діабеті.

Таблиця 6.4

Показники стану нирок щурів при STZ-діабеті та їх динаміка під впливом L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину при їх призначенні протягом 28 діб експерименту (M_{±m})

Показники	Групи тварин			
	Контроль	STZ-діабет	STZ-діабет + глутаргін	STZ-діабет + аміногуанідин
ГПЛ, 103 ум.од. /кг	3,58±0,05	4,15±0,06 p<0,001	3,63±0,02 p ₁ <0,001 p>0,05	4,65±0,05 p ₁ <0,001 p<0,001
ТБП, ммоль/кг	1,98±0,11	2,53±0,02 p<0,01	1,87±0,04 p ₁ <0,001 p>0,05	2,93±0,13 p ₁ <0,05 p<0,01
СОД, ум.од.	1,31±0,08	2,05±0,15 p<0,01	1,31±0,10 p ₁ <0,01 p>0,05	2,71±0,21 p ₁ <0,05 p<0,001
Каталаза, кат/кг	9,90±0,51	11,01±0,35 p>0,05	9,77±0,36 p ₁ <0,05 p>0,05	10,15±0,24 p ₁ >0,05 p>0,05
G-SH, ммоль/кг	3,58±0,11	2,93±0,11 p<0,01	3,87±0,09 p ₁ <0,001 p>0,05	2,38±0,09 p ₁ <0,01 p<0,001
СДГ, ммоль/(кг·хв.)	6,79±0,16	5,44±0,08 p<0,001	6,94±0,20 p ₁ <0,001 p>0,05	7,19±0,25 p ₁ <0,001 p>0,05
ЦХО, ммоль/(кг·хв.)	4,48±0,08	4,15±0,07 p<0,02	4,52±0,12 p ₁ <0,05 p>0,05	3,78±0,11 p ₁ <0,05 p<0,01
NO ₂ ⁻ , мкмоль/кг	1,22±0,06	1,01±0,03 p<0,05	1,69±0,12 p ₁ <0,01 p<0,02	0,73±0,03 p ₁ <0,001 p<0,001

У групі тварин, які отримували L-аргініну-L-глутамат, відмічено позитивну динаміку з боку показників антиоксидантної системи (рис. 6.2). Зокрема,

активність СОД та каталази у гомогенатах нирок була відповідно на 36 % та 11 % нижчою, а вміст GSH на 32 % вищим, ніж у щурів з діабетом, які не отримували засоби корекції. При 4-тижневому застосуванні аміногуанідину у тварин із STZ-діабетом активність СОД у нирках продовжувала наростати і була на 32 % більшою, а вміст відновленого глутатіону на 19 % меншим, при незмінній активності каталази, порівняно з аналогічними показниками у групі щурів з діабетом

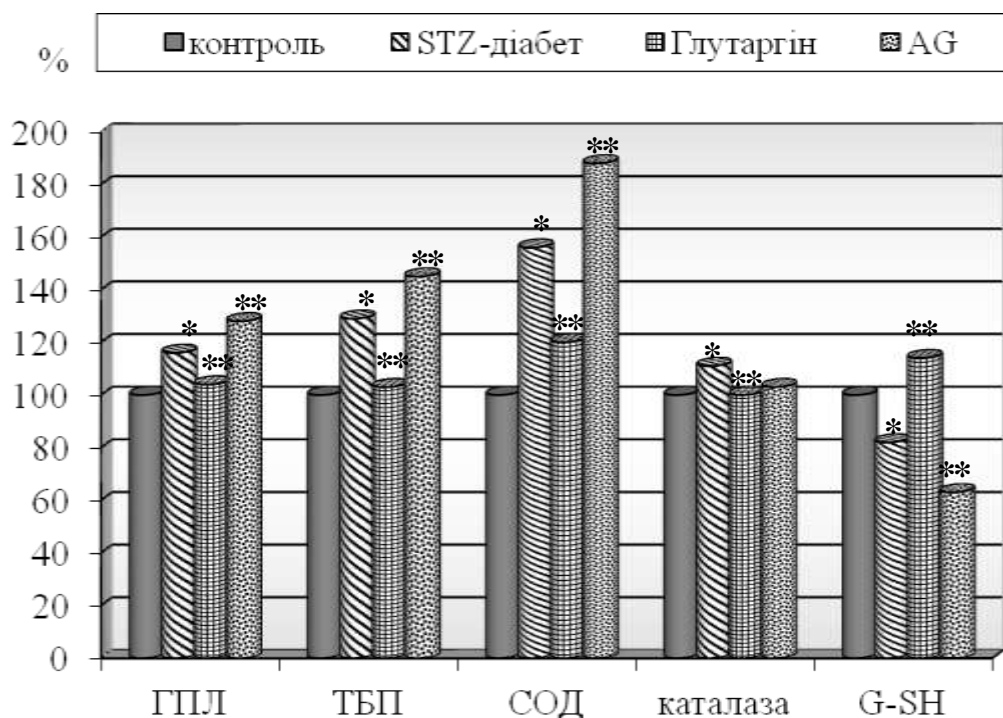


Рис. 6.2 Зміни показників систем прооксиданти-антиоксиданти у нирках при STZ-діабеті та окремому введенні глутаргіну й аміногуанідину з 2 по 28 добу експерименту.

При застосуванні глутаргіну активність мітохондріальних ферментів СДГ та ЦХО у нирках на 27 % та 9 % перевищувала відповідні показники у тварин з STZ-діабетом без корекції. При введенні блокатора iNOS активність СДГ у гомогенатах нирок знаходилась на рівні контролю, а активність ЦХО знижувалась на 9 %, порівняно з аналогічними параметрами при стрептозотоциновому діабеті (див. табл. 6.4).

Позитивні зміни стану нирок під впливом глютаргіну відбувались на тлі зростання у них кількості NO_2^- на 69 %, порівняно з групою тварин з STZ-діабетом. На протилежність цьому, під впливом аміногуанідину синтез оксиду азоту гальмувався, про що свідчив менший вміст його стабільного метаболіту в органі – на 28 %, порівняно з щурами, в яких корекцію не проводили (див. табл. 6.4).

Таким чином, попередник синтезу NO L-аргініну-L-глутамат при його введенні з 2 по 28 добу експерименту при STZ-діабеті позитивно впливав на стан нирок. У цій серії показники пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи, активність мітохондріальних ферментів знаходились на рівні контролю при збільшеній кількості стабільного метаболіту оксиду азоту в органі. Аміногуанідин сприяв поглибленню порушень у системі прооксиданти-антиоксиданти у нирках при STZ-діабеті, що відбувалось на тлі зниженого вмісту NO_2^- .

6.2 Особливості впливу попередника та блокатора синтезу NO при їх комбінованому введенні протягом 14 діб експерименту на стан печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті

Метою наступного етапу досліджень, результати яких представлено у даному підрозділі, був порівняльний аналіз особливостей впливу попередника та блокатора синтезу NO (L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину відповідно), при їх комбінованому введенні протягом 14 діб (з 15 по 28 добу) експерименту, на стан печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті. Отримані результати порівнювали не лише з показниками у групі тварин з STZ-діабетом, але й з аналогічними показниками у групі щурів, яким вводили L-аргініну-L-глутамат. Ці дослідження здійснено для підтвердження позитивної ролі стимуляції утворення NO у регресії ознак гепато- та нефропатії при стрептозотоциновому діабеті під впливом прекурсора синтезу NO L-аргініну-L-глутамату.

6.2.1 Особливості впливу L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину у випадку їх комбінованого призначення протягом 2 тижнів експерименту на динаміку маси тіла тварин та біохімічні показники у крові при стрептозотоциновому діабеті

Як видно з даних, представлених у табл. 6.5, при комбінованому застосуванні глутаргіну з аміногуанідином маса тіла тварин за час експерименту достовірно збільшилась на 10 % проти вихідної маси.

Таблиця 6.5

Зміни маси тіла тварин у процесі експерименту при STZ-діабеті та під впливом глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та комбінованому застосуванні протягом 2 тижнів

Група тварин	Маса тіла, г (M±m)		Зміна маси (%)	Достовірність різниці
	вихідна	через 28 діб		
Контроль	104,2±6,1	144,2±4,1	+38	p' < 0,01
STZ-діабет	117,5±6,7	132,5±3,4	+13	p' > 0,05 p'' < 0,02
STZ-діабет+ глутаргін	124,2±8,1	161,7±7,2	+30	p' < 0,02 p• < 0,02
STZ-діабет+ аміногуанідин	126,7±15,7	142,5±11,8	+13	p' > 0,05 p• > 0,05
STZ-діабет+ глутаргін+ аміногуанідин	139,2±4,8	153,3±3,1	+10	p' < 0,05 p• > 0,05 p° < 0,01

Примітка. p' – достовірність різниці між масою тіла на початку і в кінці дослідження; достовірність зміни маси тіла за час експерименту: p'' – відносно контролю, p• – відносно STZ-діабету, p° – відносно групи тварин, яким вводили глутаргін.

Проте у цій серії приріст маси за період експерименту статистично не відрізнявся від аналогічного показника у групі з STZ-діабетом та був

достовірно нижчим, ніж у щурів, які отримували лише глутаргін. При застосуванні останнього маса тіла тварин зросла на 30 %, при введенні аміногуанідину – статистично не змінилась, порівняно з відповідним показником на початку дослідження та групою тварин з STZ-діабетом.

Загибель тварин у групі, в якій використовували глутаргін, була відсутня, при монопризначенні аміногуанідину або його комбінації з глутаргіном її рівень становив 10 %.

Як свідчать отримані результати, представлені у табл. 6.6, рівень глюкози у сироватці крові при корекції був нижчим, порівняно з тваринами з STZ-діабетом: при введенні глутаргіну – на 22 %, у випадку застосування аміногуанідину – на 32 %, при поєднанні препаратів – на 24 %. Достовірне зменшення вмісту HbA1C спостерігалось під впливом аміногуанідину (на 29%). При введенні глутаргіну або його комбінації з аміногуанідином відмічено стійку тенденцію до зниження цього показника.

Комбінування попередника та блокатора синтезу оксиду азоту супроводжувалось нівелюванням стимулюючого впливу першого на вміст NO_2^- у сироватці крові. У групі тварин, які отримували обидва препарати, кількість стабільного метаболіту NO була на 20 % меншою, ніж при монозастосуванні L-аргініну-L-глутамату, та не відрізнялась від аналогічного показника при STZ-діабеті.

Негативні зміни при комбінуванні попередника та блокатора синтезу NO відмічено і при дослідженні вмісту ТБК-активних продуктів та активності каталази у сироватці крові експериментальних тварин. Як видно з наведених у табл. 6.6 даних, при поєднаному застосуванні препаратів вміст вторинних продуктів переокиснення ліпідів був вищим на 12 %, ніж при STZ-діабеті, і на 42 % – при порівнянні з групою тварин, які отримували глутаргін, тоді як при монозастосуванні останнього цей показник був на 21 % меншим, ніж при діабеті.

**Зміни окремих біохімічних показників у крові щурів з STZ-діабетом та при
окремому і комбінованому введенні глутаргіну та аміногуанідину
протягом 14 діб (M±m)**

Показник	Група тварин			
	STZ-діабет (n=8)	STZ-діабет+ + глутаргін (n=10)	STZ-діабет+ +аміногуанідин (n=9)	STZ-діабет +глутаргін+ +аміногуанідин (n=9)
Глюкоза, ммоль/л	21,79±1,01 p<0,001	16,98±0,36 p ₁ <0,001	14,70±0,44 p ₁ <0,001	16,55±0,24 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
HbA1C, абс. %	10,28±0,54 p<0,001	9,61±0,43 p ₁ >0,05	7,25±0,55 p ₁ <0,01	8,77±0,40 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	2,38±0,05 p<0,001	2,84±0,10 p ₁ <0,01	1,82±0,05 p ₁ <0,001	2,27±0,19 p ₁ >0,05 p ₂ <0,05
ТБП, ммоль/л	1,61±0,03 p<0,001	1,27±0,04 p ₁ <0,001	1,90±0,03 p ₁ <0,001	1,80±0,03 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Каталаза, кат/л	6,69±0,17 p<0,001	5,30±0,24 p ₁ <0,01	7,95±0,19 p ₁ <0,01	6,09±0,23 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05
Креатинін, мкмоль/л	56,94±1,08 p<0,02	47,92±1,19 p ₁ <0,001	60,95±0,42 p ₁ <0,02	58,93±1,26 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001
Сечовина, ммоль/л	10,07±0,26 p<0,001	8,30±0,31 p ₁ <0,01	7,23±0,28 p ₁ <0,001	9,22±0,29 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
АлАТ, ммоль/(л·год)	1,19±0,03 p<0,001	0,92±0,03 p ₁ <0,001	1,35±0,02 p ₁ <0,01	1,02±0,06 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
АсАТ, ммоль/(л·год)	1,19±0,06 p<0,01	0,89±0,06 p ₁ <0,02	1,08±0,04 p ₁ >0,05	1,17±0,03 p ₁ >0,05 p ₂ <0,01
ЛФ, ммоль/л	2,65±0,08 p<0,001	1,68±0,05 p ₁ <0,001	2,54±0,19 p ₁ >0,05	2,07±0,14 p ₁ <0,02 p ₂ <0,05

Примітка. У цій та наступних таблицях підрозділу 6.2 достовірність відносно: p – контролю, p₁ – STZ-діабету, p₂ – групи STZ-діабет+глутаргін.

Щодо активності каталази, то при поєднаному введенні препаратів рівень цього показника, хоча і був на 9 % нижчим, ніж при STZ-діабеті, але на 15 % перевищував відповідну величину в групі тварин, які отримували лише глутаргін.

Вміст сечовини у сироватці крові експериментальних тварин при введенні глутаргіну був меншим на 18 %, а при його комбінуванні з аміногуанідином достовірно не відрізнявся від аналогічного показника при STZ-діабеті. При поєднанні двох препаратів відмічено тенденцію до зростання рівня сечовини, порівняно з групою щурів, де використовували лише глутаргін (див. табл. 6.6).

Подібна закономірність зберігалась і при дослідженні концентрації креатиніну у сироватці крові. При цьому при введенні глутаргіну відмічалось зниження цього показника на 16 %, порівняно з групою тварин з STZ-діабетом, при поєднанні ж препаратів даний показник не відрізнявся від аналогічної величини у щурів з діабетом.

Комбінування попередника та блокатора синтезу NO негативно позначалось на біохімічних показниках сироватки крові, які характеризують процеси цитолізу та холестазу. Зокрема, активність АлАТ у цій серії була на 11 % вищою, ніж у групі щурів, які отримували лише глутаргін, і не відрізнялась від відповідного показника при STZ-діабеті, тоді як при окремому застосуванні глутаргіну активність даного ферменту була на 23 % нижчою, ніж при діабеті (див. табл. 6.6).

Таким чином, при комбінованому 2-тижневому застосуванні попередника синтезу NO L-аргініну-L-глутамату та блокатора NO-синтази аміногуанідину при стрептозотоциновому діабеті відмічено зменшення позитивного впливу L-аргініну-L-глутамату на рівень загибелі тварин, динаміку маси їх тіла за період експерименту, біохімічні показники сироватки крові, які характеризують стан системи прооксиданти-антиоксиданти, процеси цитолізу та холестазу у печінці та функціональної здатності нирок, що відбувалось на тлі зменшення вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту.

6.2.2 Особливості гепатопротекторної дії L-аргініну-L-глутамату при стрептозотоциновому діабеті при його комбінованому застосуванні з аміногуанідином протягом 2 тижнів експерименту

Як свідчать результати, представлені у табл. 6.7, при комбінованому введенні препаратів позитивний вплив глутаргіну на синтез NO у печінці нівелювався: рівень NO_2^- в органі у цій групі не відрізнявся від показника тварин із STZ-діабетом і був на 78 % нижчим, ніж при монозастосуванні L-аргініну-L-глутамату. При введенні останнього цей показник на 81 % перевищував відповідну величину у щурів з діабетом.

Таблиця 6.7

Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні протягом 14 діб на стан печінки при STZ-діабеті ($M \pm m$)

Показник	Група тварин				
	Контроль (n=6)	STZ-діабет (n=8)	STZ-діабет +глутаргін (n=10)	STZ-діабет +аміно- гуанідин (n=9)	STZ-діабет + глутаргін +аміногуані- дин (n=9)
ГПЛ, 103 ум.од./кг	4,32±0,06	5,53±0,05 p<0,001	4,44±0,06 p ₁ <0,001	6,17±0,05 p ₁ <0,001	5,40±0,07 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001
ТБП, ммоль/кг	4,56±0,04	8,44±0,30 p<0,001	6,36±0,30 p ₁ <0,01	8,84±0,28 p ₁ >0,05	8,25±0,20 p ₁ >0,05 p ₂ <0,01
СОД, ум.од.	2,07±0,07	2,74±0,06 p<0,001	1,94±0,05 p ₁ <0,001	3,05±0,06 p ₁ <0,02	2,45±0,06 p ₁ <0,02 p ₂ <0,001
Каталаза, кат/кг	12,8±0,6	15,1±0,5 p<0,05	12,6±0,1 p ₁ <0,01	15,1±0,2 p ₁ >0,05	12,9±0,2 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
G-SH, ммоль/кг	5,34±0,13	4,03±0,09 p<0,001	5,09±0,11 p ₁ <0,001	3,62±0,13 p ₁ <0,05	4,69±0,13 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05

СДГ, ммоль/ (кг·хв.)	8,87±0,29	7,09±0,20 p<0,01	8,11±0,23 p ₁ <0,02	8,71±0,27 p ₁ <0,01	8,61±0,19 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
ЦХО, ммоль/ (кг·хв.)	5,98±0,14	4,84±0,10 p<0,001	5,67±0,04 p ₁ <0,001	4,75±0,01 p ₁ >0,05	4,04±0,11 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001
NO ₂ ⁻ , мкмоль/кг	1,17±0,07	0,98±0,04 p<0,02	1,67±0,02 p ₁ <0,001	0,69±0,04 p ₁ <0,01	0,94±0,03 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001

При поєднаному застосуванні L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину кількість ГПЛ та ТБП у гомогенатах печінки не відрізнялась від цих показників у групі щурів з STZ-діабетом та була відповідно на 18 % та 25 % більшою, ніж у тварин, які отримували лише глутаргін (рис. 6.3).

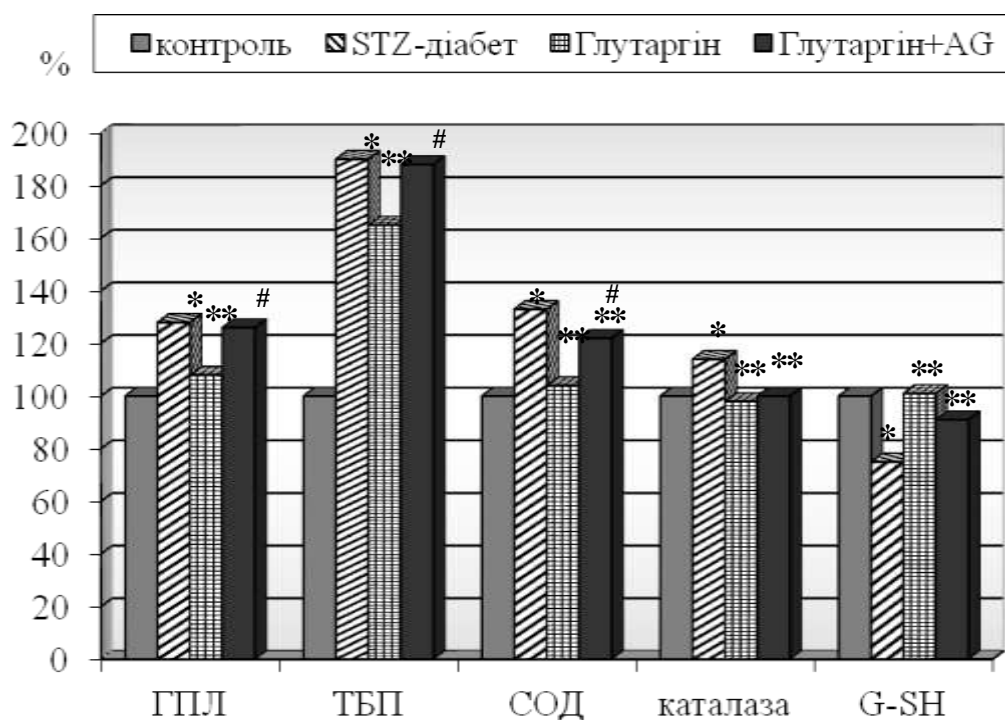


Рис. 6.3 Зміни показників системи прооксиданти-антиоксиданти у печінці при STZ-діабеті, введенні глутаргіну та його комбінації з аміногуанідином з 15 по 28 добу експерименту.

Примітка. У цьому і наступному рисунку даного розділу достовірність позначено: * – відносно контролю, ** – відносно STZ-діабету, # – відносно групи STZ-діабет + глутаргін.

При окремому введенні глутаргіну відмічено зменшення проявів оксидативного стресу у гомогенатах печінки: зниження вмісту ГПЛ (на 20 %) та ТБП (на 25 %). На протилежність цьому, під впливом аміногуанідину інтенсивність переокиснення мембранних ліпідів у печінці зростала: вміст ГПЛ збільшувався на 12 %, а кількість ТБП проявляла тенденцію до підвищення, порівняно з тваринами з STZ-діабетом (див. рис. 6.3).

При поєднанні L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину рівень СОД у печінці, хоча й був на 11 % нижчим, ніж при патології, але водночас на 20 % перевищував величину, яка реєструвалась у групі тварин, що отримували глутаргін. При монозастосуванні останнього, як зазначалось раніше, цей показник знаходився на рівні контролю, а при окремому застосуванні аміногуанідину активність СОД у печінці була на 11 % вищою, порівняно з групою тварин з STZ-діабетом, у яких корекцію не проводили. Рівень каталази у гомогенатах печінки при комбінуванні попередника та блокатора синтезу NO був нижчим на 14 %, ніж у тварин з STZ-діабетом, при введенні аміногуанідину не відрізнявся від аналогічного показника в останній групі, а при окремому застосуванні глутаргіну знаходився на рівні контролю. При дослідженні вмісту у печінці G-SH встановлено, що при поєднанні препаратів його рівень перевищував цей показник у тварин з STZ-діабетом на 16 % і був на 23 % більшим, ніж при монопризначенні аміногуанідину, але на 8 % нижчим, ніж у групі, де використовували тільки глутаргін (див. рис. 6.3).

Активність СДГ при монозастосуванні L-аргініну-L-глутамату, аміногуанідину та при комбінуванні препаратів перевищувала відповідний показник у групі щурів з STZ-діабетом відповідно на 14 %, 23 % та 21 %. Активність ЦХО була більшою на 17 % при окремому введенні глутаргіну, а при його поєднанні з аміногуанідином позитивний вплив препарату на цей показник повністю зникав (див. табл. 6.7).

Таким чином, при комбінованому застосуванні попередника синтезу NO L-аргініну-L-глутамату та блокатора індукбельної ізоформи NO-синтази

аміногуанідину при стрептозотоциновому діабеті, при порівнянні з групою тварин, в яких L-аргініну-L-глутамат використовували окремо, відмічено суттєве зменшення позитивного впливу останнього на біохімічні показники, які характеризують стан систем прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів у печінці. Поєднання препаратів призводило також до нівелювання стимулюючого впливу L-аргініну-L-глутамату на синтез оксиду азоту у печінці, про що свідчило зменшення вмісту його стабільного метаболіту NO_2^- у тканині органа, рівень якого у цій групі не відрізнявся від показника у тварин із STZ-діабетом.

6.2.3 Особливості нефропротекторної дії L-аргініну-L-глутамату при стрептозотоциновому діабеті при його комбінованому застосуванні з аміногуанідином протягом 2 тижнів експерименту

Як свідчать результати дослідження, представлені у табл. 6.8, при комбінованому введенні L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину позитивний вплив першого на синтез NO у нирках нівелювався: рівень NO_2^- у цій групі був нижчим на 10 %, ніж у тварин із STZ-діабетом, і на 100 % – порівняно з серією, де вводили лише глутаргін. Як зазначалось у попередніх розділах, під впливом глутаргіну та аміногуанідину спостерігались різноспрямовані зміни концентрації NO_2^- у нирках: у першому випадку цей показник зростав на 81 %, у другому – зменшувався на 29 %.

При поєднаному застосуванні препаратів кількість ГПЛ та ТБК-активних продуктів у гомогенатах нирок була на 13 % та 16 % меншою, порівняно з відповідними показниками у тварин з STZ-діабетом. При цьому їх вміст не відрізнявся від аналогічних показників у щурів, яким вводили окремо L-аргініну-L-глутамат. При застосуванні для корекції лише глутаргіну вміст ГПЛ та ТБК-активних продуктів у гомогенатах нирок був нижчим відповідно на 12 % та на 24 %, порівняно з групою тварин з STZ-діабетом (табл. 6.8).

Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні протягом 14 діб на стан нирок при STZ-діабеті (M±m)

Показник	Група тварин				
	Контроль (n=6)	STZ-діабет (n=8)	STZ-діабет +глутаргін (n=10)	STZ-діабет+ аміногуанідин (n=9)	STZ-діабет +глутаргін +аміногуанідин (n=9)
ГПЛ, 103 ум.од./кг	3,69±0,04	4,28±0,04 p<0,001	3,75±0,07 p ₁ <0,001	4,93±0,05 p ₁ <0,001	3,73±0,06 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05
ТБП, ммоль/кг	1,87±0,05	2,41±0,03 p<0,001	1,84±0,05 p ₁ <0,001	1,98±0,02 p ₁ <0,001	2,03±0,06 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
СОД, ум.од.	1,19±0,07	1,87±0,06 p<0,001	1,09±0,04 p ₁ <0,001	2,34±0,04 p ₁ <0,001	1,66±0,06 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001
Каталаза, кат/кг	9,85±0,30	10,93±0,13 p<0,02	9,96±0,31 p ₁ <0,05	10,19±0,29 p ₁ >0,05	10,15±0,21 p ₁ <0,02 p ₂ >0,05
G-SH, ммоль/кг	3,65±0,04	2,99±0,06 p<0,001	3,68±0,15 p ₁ <0,01	2,63±0,04 p ₁ <0,01	3,64±0,28 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
СДГ, ммоль/ /((кг·хв.)	7,35±0,25	6,03±0,23 p<0,001	7,29±0,24 p ₁ <0,001	7,65±0,10 p ₁ <0,001	7,24±0,26 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05
ЦХО, ммоль/ /((кг·хв.)	4,98±0,04	4,58±0,06 p<0,001	4,87±0,04 p ₁ <0,01	4,19±0,04 p ₁ <0,01	4,10±0,08 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001
NO ₂ ⁻ , мкмоль/кг	1,25±0,03	1,04±0,02 p<0,001	1,88±0,06 p ₁ <0,001	0,74±0,04 p ₁ <0,001	0,94±0,04 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001

При застосуванні аміногуанідину вміст ГПЛ у нирках був на 15 % більшим, а кількість вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів на 18 % меншою, порівняно з цими показниками у тварин з STZ-діабетом (рис.6.4).

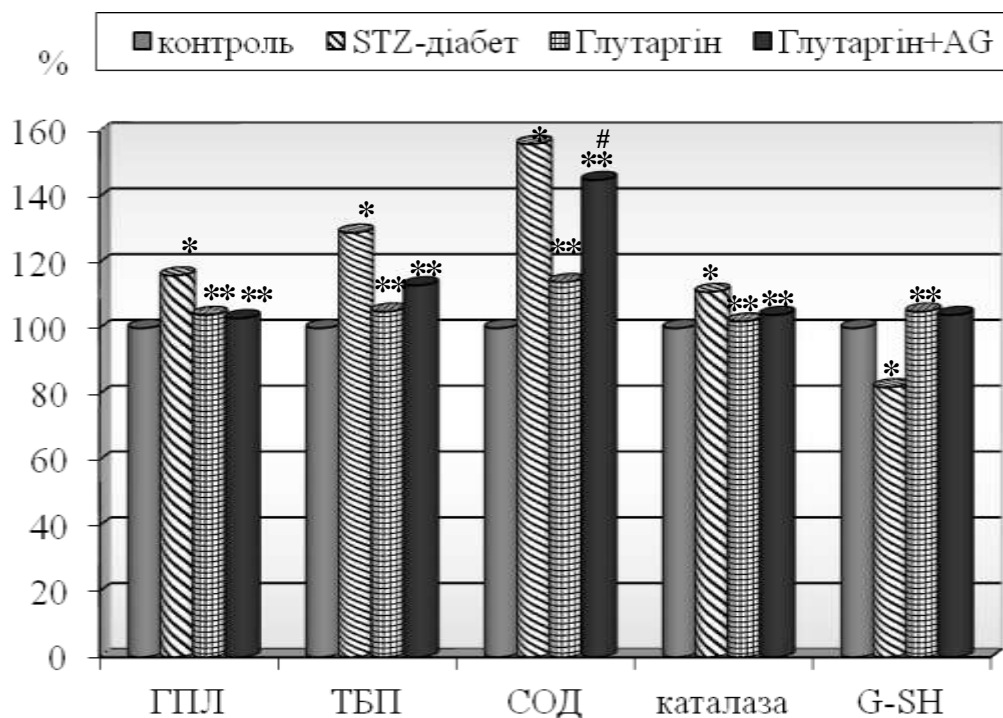


Рис. 6.4 Зміни показників систем прооксиданти-антиоксиданти у нирках при STZ-діабеті і введенні глутаргіну та його комбінації з аміногуанідином протягом 14 діб.

При комбінуванні L-аргініну-L-глутамату та аміногуанідину рівень СОД, хоча й був на 11 % нижчим, ніж при патології, але водночас на 34 % перевищував величину, яка реєструвалась у групі тварин, що отримували глутаргін. При окремому введенні попередника синтезу NO активність СОД у нирках, як зазначалося раніше, знаходилась на рівні контролю, а при застосуванні аміногуанідину була вищою на 25 %, порівняно з групою тварин, в яких корекцію не проводили (див. рис. 6.4).

Водночас поєднання препаратів не впливало на активність каталази у гомогенатах нирок: її рівень був нижчим, ніж у групі тварин з STZ-діабетом, при застосуванні глутаргіну на 9 % та на 7 % – при його комбінуванні з аміногуанідином.

При комбінуванні L-аргініну-L-глутамату з аміногуанідином вміст G-SH у гомогенатах нирок перевищував цей показник у тварин з діабетом на 22 %

та не відрізнявся від відповідного параметра у групі щурів, яким окремо вводили глютаргін (див. рис. 6.4).

Активність СДГ при застосуванні L-аргініну-L-глутамату з аміногуанідином та при монопризначенні попередника та інгібітора синтезу NO була вищою відповідно на 21 %, 27 % та 20 %, порівняно з групою тварин з STZ-діабетом, в яких корекція не проводилась. Рівень ЦХО був більшим на 6 % при застосуванні глютаргіну та меншим на 9 % при введенні аміногуанідину, порівняно з щурами з діабетом. При поєднанні L-аргініну-L-глутамату з аміногуанідином активність ЦХО у гомогенатах нирок була нижчою на 10 %, порівняно з цим показником при STZ-діабеті, та на 16 % нижчою, ніж при монозастосуванні глютаргіну (див. табл. 6.8).

Таким чином, при вивченні особливостей впливу попередника синтезу NO L-аргініну-L-глутамату та блокатора iNOS аміногуанідину при їх комбінованому застосуванні протягом 2 тижнів на стан нирок при стрептозотоциновому діабеті встановлено, що така комбінація препаратів негативно позначається на активності супероксиддисмутази, цитохромоксидази та вмісті стабільного метаболіту оксиду азоту у гомогенатах органа, порівняно з відповідними показниками у групі тварин з STZ-діабетом, яким вводили тільки попередник синтезу оксиду азоту.

Отже, проведені дослідження впливу L-аргініну-L-глутамату (глютаргіну) та аміногуанідину (в умовах, коли їх введення розпочиналось на наступний день після моделювання діабету і тривало протягом 4 тижнів, або при їх комбінованому застосуванні протягом 2 тижнів) на показники, які характеризують стан печінки та нирок при стрептозотоциновому діабеті, свідчать, що:

1. Під впливом глютаргіну, при його введенні протягом 4 тижнів тваринам із стрептозотоциновим діабетом, достовірно зменшуються вміст глюкози у сироватці крові, рівень глікозильованого гемоглобіну еритроцитів, нормалізуються показники систем прооксиданти-антиоксиданти та

мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, біохімічні маркери ураження цих органів у сироватці крові (АлАТ, лужна фосфатаза, тимолова проба, креатинін), що відбувається на тлі активації синтезу оксиду азоту.

2. Під впливом аміногуанідину при його 4-тижневому призначенні тваринам із стрептозотоциновим діабетом у крові достовірно знижується вміст глюкози та глікозильованого гемоглобіну, але показники ураження печінки та нирок суттєво не відрізняються від серії тварин з STZ-діабетом, гальмується утворення оксиду азоту, що проявляється зниженням вмісту нітрит-аніону у печінці, нирках та сироватці крові.

3. Комбіноване застосування глутаргіну та аміногуанідину при ураженні печінки, яке розвивається на тлі стрептозотоцинового діабету, супроводжується погіршенням стану печінки, порівняно з групою тварин, яким вводили лише глутаргін, зокрема зростанням вмісту гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів, активності супероксиддисмутази, зниженням активності цитохромоксидази, з одночасним зменшенням кількості NO_2^- у гомогенатах органа, що підтверджує важливість активації синтезу оксиду азоту у реалізації гепатопротекторної дії глутаргіну при цій патології.

4. Поєднане застосування глутаргіну та аміногуанідину при нефропатії, яка виникає при стрептозотоциновому діабеті, призводить до зменшення позитивного впливу прекурсора синтезу оксиду азоту на патогенетичні ланки ураження нирок, що супроводжується наростанням вмісту креатиніну та сечовини у сироватці крові, компенсаторним збільшенням активності супероксиддисмутази, зниженим рівнем цитохромоксидази мітохондрій, на тлі зменшення вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту у гомогенатах органа, що свідчить про важливість активації синтезу оксиду азоту у реалізації нефропротекторної дії глутаргіну при цій патології.

Результати досліджень, які викладені у даному розділі, знайшли відображення у таких друкованих працях [47, 67, 73, 77-79].

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Відомо, що діабетична нефропатія є однією з головних причин смерті хворих на ЦД 1 типу [32], а при ЦД 2 типу від уремії помирає до 8 % пацієнтів [1]. Встановлено також, що ризик серцево-судинних катастроф, як провідної причини смертності хворих на ЦД, зростає при ураженні нирок [25, 97]. При цьому частота серцево-судинної смертності у 2,2 раза вища при наявності мікроальбумінурії і у 3,7 рази вища – при протеїнурії. Відповідно, ефективне попередження та сповільнення прогресування ураження нирок при цукровому діабеті напряду зв'язане з покращанням якості життя хворих та зменшенням рівня їх смертності [96, 271].

Дані літератури останніх років свідчать, що частота уражень печінки при цукровому діабеті (цирозу, гострої печінкової недостатності тощо) є суттєво більшою, порівняно з відповідними показниками у людей, які не хворіють на цукровий діабет [112, 174, 237]. Встановлена чітка залежність між неалкогольною жировою дистрофією печінки, яка діагностується у більшості хворих на цукровий діабет 2 типу, та збільшеним ризиком кардіоваскулярних ускладнень, незалежно від інших ознак метаболічного синдрому, інсулінорезистентності та відомих класичних факторів ризику [174, 240, 252]. Зокрема, показано, що у хворих з інфарктом міокарда, ішемічним інсультом, коронарною реваскуляризацією, кардіоваскулярною смертю, порівняно з пацієнтами без таких розладів, були істотно вищими рівень печінкових ферментів, глікозильованого гемоглобіну, частота неалкогольної жирової дистрофії печінки та проявів метаболічного синдрому. За висновками дослідників, ураження печінки є незалежним предиктором кардіо-васкулярних ускладнень у хворих на ЦД 2 типу, причому тяжкість печінкових гістологічних змін прямо корелює з ранніми ознаками атеросклеротичного ураження артерій та суттєвим зниженням ендотелій-залежної вазорелаксації [225]. Показано також, що у пацієнтів з цукровим діабетом 1 типу, який ускладнився гепатопатією, спостерігаються більш глибокі метаболічні розлади, порівняно з

групою хворих, в яких відсутнє ураження печінки [58]. При цьому підвищуються амплітуда коливань рівня глюкози крові, вміст HbA1C, холестерину, ліпопротеїнів, жовчних кислот, фібрoneктину, відбувається накопичення ТБК-активних продуктів та знижується активність ферментів антиоксидантного захисту. Більше того, існує точка зору, що між факторами, що спричиняють формування діабетичної гепатопатії, та впливом самого ураження печінки на перебіг ЦД існує взаємообтяжуючий зв'язок з утворенням хибного кола і лише включення до технології лікування ЦД ефективної гепатотропної терапії здатне розірвати ланцюг цих патологічних змін [58].

Ці спостереження мають важливе значення для клініки, оскільки вчасне діагностування, проведення профілактики та активне лікування ураження печінки та нирок у пацієнтів з цукровим діабетом може покращити перебіг захворювання та зменшити ризик смерті від його ускладнень.

Загальновідомо, що характерні для ЦД макро- та мікроангіопатії значною мірою пов'язані з ендотеліальною дисфункцією [20, 142, 159, 178]. Однією з сучасних концепцій патогенетичної терапії та профілактики макро- та мікроангіопатій при ЦД є відновлення функції ендотелію та біодоступності NO [138, 167].

Дослідження останнього десятиліття приділяють суттєву увагу ролі NO у патогенезі цукрового діабету як першого, так і другого типу [36, 144, 164]. Водночас дані про роль змін активності системи NO при цукровому діабеті є суперечливими. З одного боку, показано, що оксид азоту виступає медіатором імуноопосередкованої деструкції бета-клітин острівців Лангерганса при діабеті, а призначення інгібіторів його синтезу справляє позитивний вплив на прояви даного захворювання [266, 276]. Інші автори стверджують, що при цукровому діабеті спостерігається зменшення вмісту в ендотелії судин субстрату для синтезу NO – L-аргініну, а його призначення в експерименті чи у клініці супроводжується покращанням перебігу захворювання [116, 125, 134, 190, 196]. В останні роки цукровий діабет з глибокою інсулінопенією розглядається як стан генералізованого дефіциту NO [193].

Суперечливість відомостей про участь системи L-аргінін-оксид азоту в патогенезі уражень внутрішніх органів при цукровому діабеті та зареєстрована ефективність попередників синтезу оксиду азоту в редукції проявів даного захворювання робить необхідним подальше вивчення ролі цієї системи у патогенезі ураження печінки та нирок при діабеті та встановлення можливостей його корекції за допомогою попередників синтезу NO. Одним з таких засобів є L-аргініну-L-глутамат (глутаргін) – прекурсор оксиду азоту, який з успіхом використовується в якості лікарського препарату з гепатопротекторними властивостями [11, 14, 26, 27].

Як свідчать результати, отримані у наших дослідженнях, у щурів із стрептозотоциновим діабетом впродовж 4-тижневого терміну спостереження суттєво сповільнювався приріст маси тіла (13 %, у контролі – 38 %). У цій серії спостерігалась загибель 20 % тварин. Розвиток цукрового діабету підтверджувався збільшенням концентрації глюкози та глікозильованого гемоглобіну в крові (відповідно у 3,1 та 1,8 раза). Отримані зміни відповідають існуючим даним літератури про стадії розвитку STZ-діабету, які свідчать, що після 10 доби з моменту введення стрептозоточину відбувається стабілізація патологічного процесу, який характеризується сталою гіпоінсулінемією, високими рівнями глюкози у крові та сечі, явищами дисліпідемії [43, 132].

При цьому через 4 тижні спостереження відбувалось зниження вмісту стабільного метаболіту NO у печінці та нирках, порівняно з контролем. Даний факт підтверджується результатами досліджень інших авторів, які відмітили суттєве зниження синтезу NO на 4-му тижні розвитку стрептозотоцинового ЦД, тоді як на 2-му тижні суттєвих змін у системі NO ними не зареєстровано [262].

Навпаки, у сироватці крові у наших дослідах вміст NO_2^- зростав. Останнє узгоджується з наявними літературними даними про те, що підвищення сироваткового рівня нітритів+нітратів понад верхній рівень норми є предиктором діабету та метаболічного синдрому [45, 158, 278].

На цьому тлі відбувалась активація вільнорадикальних процесів у печінці та нирках з наростанням вмісту у них гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних

продуктів, що, за даними літератури, є одним з ключових компонентів патогенезу ускладнень цукрового діабету [7, 113]. Зокрема, встановлено, що у пацієнтів з високим рівнем утворення вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів відмічаються виражені ознаки діабетичних ангіопатій з ушкодженням ендотелію судин та порушеннями мікроциркуляції [58].

У наших дослідах вміст ГПЛ у гомогенатах печінки зростав на 28 %, ТБК-активних продуктів – в 1,9 раза, у нирках – на 16 % та 29 % відповідно. Одночасно відмічалось компенсаторне збільшення активності антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази та каталази, але зменшення рівня відновленого глутатіону, що підтверджується даними літератури про роль дискоординації активності та вмісту компонентів антиоксидантної системи у розвитку діабетичних ускладнень [191]. Зростання рівня супероксиддисмутази на фоні гальмування утворення NO, що відмічено у наших дослідах, у свою чергу, корелює з відомостями про те, що NO може взаємодіяти із атомом міді в активному центрі цього ферменту, що супроводжується зниженням супероксиддисмутази активності [10]. Відмічене також зменшення активності мітохондріальних сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази. Як відомо, порушення функції мітохондрій вважається важливим механізмом патогенезу інсулінорезистентності при ЦД та діабетичних ускладнень [154, 188]. У крові експериментальних тварин наростали кількість та активність маркерів цитолітичного та холестатичного компонентів ураження печінки (АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази), показник тимолової проби. Підвищення рівня креатиніну та сечовини у сироватці крові, яке відмічено у цій серії дослідів, за даними літератури, може бути результатом як їх гіперпродукції (зокрема, при декомпенсованому цукровому діабеті), так і ранньою ознакою розвитку ниркової недостатності з порушенням фільтраційної здатності нирок [24].

При гістологічному дослідженні печінки щурів з STZ-діабетом спостерігалась дифузна лімфогістіоцитарна інфільтрація, відмічались суттєві порушення з боку центральних вен: значне їх розширення, повнокрів'я, що супроводжувалось появою дистрофічних та некротичних змін

центролобулярних гепатоцитів. У нирках відмічалась гіаліново-крапельна, рідше – вакуольна, дистрофія, аж до некрозу окремих клітин. Строма кіркової і мозкової речовини була набряклою, з явищами лімфоїдно-клітинної інфільтрації.

Встановлено, що повторне введення протягом 2 тижнів (з 15 по 28 добу досліду) модуляторів синтезу оксиду азоту (попередників його синтезу та блокторів NO-синтази) тваринам із стрептозотоциновим діабетом у більшості випадків супроводжувалось різноспрямованими змінами показників, які вивчались.

L-аргінін та глутаргін сприяли відновленню приросту маси тіла тварин протягом експерименту, який становив у цих групах відповідно 36 % та 30 %, у контролі – 38 %, при STZ-діабеті – 13 %. При введенні N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину цей показник не відрізнявся від групи щурів з діабетом.

Попередники синтезу NO повністю попереджували загибель щурів з STZ-діабетом, тоді як при застосуванні N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину гинуло відповідно 40 % та 10 % експериментальних тварин.

Досліджувані речовини неоднозначно впливали на рівень глюкози у сироватці крові. При введенні L-аргініну та глутаргіну цей показник зменшувався відповідно на 14 % та 22 %. Такі зміни під впливом попередників NO можна пояснити тим, що екзогенний NO, який утворюється при введенні його прекурсорів, стимулює секрецію інсуліну бета-клітинами острівців Лангерганса [17, 149]. Зокрема, за даними літератури, у пацієнтів з ЦД 2 типу призначення L-аргініну сприяє суттєвому підвищенню рівня сироваткового інсуліну [147]. З іншого боку, під впливом неселективного інгібітора NO-синтази рівень глюкози у наших дослідах не змінювався, порівняно з тваринами з STZ-діабетом, в яких корекція не проводилась. Це, ймовірно, пояснюється тим, що пригнічення активності NO-синтази за допомогою структурних аналогів L-аргініну, до яких належить і N-нітро-L-аргінін, спричиняє гальмування захоплення глюкози периферичними тканинами [218]. При застосуванні аміногуанідину вміст глюкози у сироватці крові щурів з STZ-

діабетом був на 32 % менший, ніж у групі тварин з діабетом, в яких корекцію не проводили.

Достовірне зменшення вмісту HbA1C (глікозильованого гемоглобіну) у крові при STZ-діабеті спостерігалось під впливом селективного інгібітора NOS, в інших випадках відмічалась тенденція до його зниження. Факт редукції вмісту HbA1C при введенні аміногуанідину узгоджується з даними інших дослідників, які відносять цю речовину до агентів, здатних зменшувати кількість AGEs (кінцевих продуктів глікозилювання) та цим потенційно попереджувати розвиток діабетичних ускладнень [9, 161, 162].

При порівняльному аналізі результатів дослідження біохімічних показників сироватки крові експериментальних тварин із стрептозотоциновим діабетом та при корекції прекурсорами синтезу оксиду азоту встановлено, що на тлі застосування L-аргініну та глутаргіну при їх введенні протягом 2 тижнів експерименту (з 15 по 28 добу досліду) ознаки ураження печінки та нирок зменшувались. Це підтверджувалось суттєво нижчою активністю маркерних ферментів цитолізу та холестази, яка у тварин цих серій знаходилась на рівні контролю, більш низькими значеннями, порівняно з показниками при STZ-діабеті, рівнів сечовини та креатиніну, вмісту вторинних продуктів ліпідної пероксидації та активності каталази. На протилежність цьому, на тлі застосування у тварин з STZ-діабетом інгібіторів синтезу оксиду азоту, особливо N-нітро-L-аргініну, встановлено прогресування патологічних змін, порівняно з групою щурів, в яких корекція не проводилась, що насамперед проявлялось подальшим зростанням вмісту ТБК-активних продуктів та активності каталази у сироватці крові, що відбувалось на тлі зменшення вмісту нітрит-аніону та сечовини. Разом з тим, зниження вмісту сечовини у сироватці крові на 28 % при стрептозотоциновому діабеті при застосуванні обох блокаторів синтезу NO, на наш погляд, не є свідченням покращання видільної функції нирок у тварин цих серій. Даний ефект можна пояснити пригніченням синтезу сечовини з L-аргініну гепатоцитами в результаті погіршення функції печінки [5, 17].

Про рівень синтезу оксиду азоту у внутрішніх органах тварин під впливом досліджуваних речовин у наших дослідах свідчили зміни у них вмісту стабільного метаболіту $\text{NO} - \text{NO}_2^-$. Зокрема, при введенні L-аргініну та глутаргіну спостерігалось зростання цього показника відповідно на 71 % і 81 % (у печінці) та на 69 % і 80 % (у нирках). При застосуванні блокаторів NO-синтази N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину відбувалось зниження його концентрації на 43 % і 25 % (у печінці) та на 30 % і 29 % (у нирках).

При введенні L-аргініну та глутаргіну відмічено зменшення проявів оксидативного стресу, що проявлялось зниженням вмісту ГПЛ (у печінці – на 16 % та 20 % відповідно, у нирках – на 15 % та 9 %) та ТБК-активних продуктів (у печінці – на 22 % та 25 % відповідно, у нирках – на 12 % та 24 %). Навпаки, під впливом N-нітро-L-аргініну, меншою мірою аміногуанідину, в щурів з діабетом відмічено прогресування процесів переокиснення мембранних ліпідів з наростанням кількості в гомогенатах органів ГПЛ та ТБК-активних продуктів.

У тварин, що отримували глутаргін, активність СОД та каталази у печінці та нирках знаходилась на рівні інтактних щурів. При застосуванні N-нітро-L-аргініну спостерігалось подальше компенсаторне збільшення активності цих ферментів у відповідь на наростання кількості продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів.

Попередники синтезу NO L-аргінін та глутаргін сприяли зростанню вмісту іншого компоненту антиоксидантної системи – GSH (у печінці на 16 % та 26 %, у нирках – на 17 та 23 %), причому при введенні глутаргіну його кількість не відрізнялась від групи контролю. Під впливом блокаторів NOS вміст GSH у досліджуваних органах продовжував зменшуватись і був у тварин, які отримували N-нітро-L-аргінін, нижчим на 20 % і 19 %, при введенні аміногуанідину – на 10 % та 12 % (у печінці та нирках відповідно), порівняно з групою щурів з STZ-діабетом, в яких корекцію не проводили.

Таким чином, під впливом глутаргіну відмічена нормалізація у досліджуваних органах ключових компонентів антирадикального та антипероксидного захисту клітини (СОД, каталази, GSH), що, у свою чергу,

позитивно позначалось на функціональному стані нирок та печінки в цілому. Останнє підтверджується дослідженнями, які свідчать, що при нормалізації функції системи глутатіону зростає не лише активність антиоксидантного захисту, але й здатність печінки до детоксикації екзо- та ендогенних токсичних сполук [29].

При введенні L-аргініну щурам з STZ-діабетом активність сукцинатдегідрогенази у гомогенатах досліджуваних органів не відрізнялась від контролю. При застосуванні глутаргіну у печінці та нирках відбувалось відновлення до рівня інтактних тварин активності обох компонентів мітохондріального транспорту електронів – сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази. Позитивний вплив попередників синтезу NO на процеси тканинного дихання узгоджується з даними літератури [245] і пояснюється участю NO у процесах регуляції його рівня через вплив на функцію гемвмісних білків – гемоглобіну, метгемоглобіну, цитохромоксидази [51, 222].

При порівнянні гістологічних препаратів печінки у щурів з діабетом та тих, які впродовж 2 тижнів (з 15 по 28 добу досліду) отримували глутаргін, відмічено позитивну динаміку під впливом препарату. У цій групі у печінці зберігалось застійне повнокрів'я у судинах порталних трактів, їх помірна лімфо-гістіоцитарна інфільтрація. Відмічалось розширення центральних вен з їх повнокрів'ям. Просвіт синусоїдів був звичайний або звужений, вільний від еритроцитів, проте в ньому зустрічались клітинні макрофаги. В центролобулярних гепатоцитах спостерігалась помірна білкова дистрофія, проте в середній частині печінкової часточки гепатоцити залишалися майже незміненими.

При гістологічному дослідженні тканини нирок на тлі STZ-діабету та 2-тижневому введенні глутаргіну у кірковій речовині в окремих клубочках спостерігалась помірна проліферація мезангіальних клітин. Проте переважна більшість гломерул мала звичайну структуру. В інтерстиційній тканині відмічалися незначні набряк та лімфо-гістіоцитарна інфільтрація стромальних елементів, дилатація гемокапілярів. Проксимальні каналці помірно

розширювались. В їх просвіті можна було побачити невелику кількість десквамованих епітеліоцитів.

У тварин із STZ-діабетом, яким протягом двох тижнів вводили N-нітро-L-аргінін, у печінці спостерігалось переважання дистрофічних змін над компенсаторними, про що свідчило зростання кількості деформованих гепатоцитів в полі зору. Відмічалися розширення перивенулярних синусоїдів, атрофія та деструкція розміщених між ними гепатоцитів, формування централобулярного фіброзу.

У щурів, які отримували аміногуанідин, патологічні зміни у печінці були виражені дещо менше, порівняно з попередньою групою. Проте, у них зберігались дистрофічні зміни гепатоцитів. Залишались помірна інфільтрація лімфоцитами, окремими плазматичними клітинами, макрофагами, розширення та повнокрів'я синусоїдів, явища холестазу.

Патологічні зміни структури ниркової тканини при 2-тижневому введенні інгібіторів NOS прогресували як у тубулярному, так і в гломерулярному апараті нирки, порівняно з групою тварин з діабетом, що особливо яскраво проявлялось при застосуванні N-нітро-L-аргініну. У цій серії пошкодження мікроциркуляторного русла носило генералізований характер і стосувалося як внутрішньосудинних розладів в самих клубочках, так і в стромальних елементах, спостерігались явища гідропічної дистрофії, що призводило до звуження просвітів каналців.

Наступним етапом досліджень було встановлення особливостей впливу попередника синтезу NO та блокатора індукцйбельної NO-синтази на стан печінки та нирок при STZ-діабеті, за умови, що введення цих засобів корекції розпочиналось на наступний день після ін'єкції стрептозотоцину та тривало з 2 по 28 добу експерименту. При цьому виходили з існуючих даних літератури про ключову роль NO та пероксинітриту в ініціації ураження β -клітин острівців Лангерганса підшлункової залози при стрептозотоциновому діабеті [42, 43]. Відповідно, можна було очікувати, що попередник утворення NO L-аргініну-L-глутамат, якщо розпочинати його введення на стадії ураження острівцевого

апарату підшлункової залози стрептозотоцином, здатен погіршити стан печінки та нирок, порівняно з групою тварин з STZ-діабетом, в яких корекція не проводилась, блокатор індуцибельної NO-синтази у цих умовах повинен, навпаки, зменшувати ступінь їх ураження. Проте, при порівняльному аналізі результатів, які було отримано у цих серіях дослідів, відмічено збереження тих закономірностей впливу L-аргініну-L-глутамату (глутаргіну) та аміногуанідину на досліджувані показники, які відмічено при 2-тижневому введенні цих препаратів (з 15 по 28 добу експерименту).

При 4-тижневому застосуванні глутаргіну маса тварин зросла на 31 %, причому приріст маси за 28 діб експерименту у цій групі достовірно відрізнявся від аналогічного показника при стрептозотоциновому діабеті. При корекції аміногуанідином була відсутня достовірна різниця між середньою масою тіла тварин на початку та в кінці дослідів та приростом маси у цій групі та у тварин з діабетом. У серії, де щури отримували 28 діб L-аргініну-L-глутамат, загинуло не було, при застосуванні аміногуанідину загинуло 10 % тварин.

На тлі 4-тижневого застосування глутаргіну у щурів з діабетом показники систем прооксиданти-антиоксиданти, мітохондріального електронного транспорту, маркерів цитолітичного та холестатичного компонентів ураження печінки, рівні тимолової проби, креатиніну та сечовини у сироватці крові не відрізнялись від аналогічних показників у контрольній групі тварин. А вміст глюкози та HbA1C був меншим, ніж у групі щурів з STZ-діабетом без корекції, відповідно на 25 % та 11 %.

Застосування селективного блокатора iNOS аміногуанідину протягом 4 тижнів (з 2 по 28 добу експерименту) не призводило до істотного покращання досліджуваних показників, на яке можна було сподіватись, зважаючи на існуючі дані про те, що на початкових стадіях ураження β -клітин при STZ-діабеті відбувається зростання активності індуцибельної NO-синтази з підсиленням утворення NO та пероксинітриду [43, 132]. На наш погляд, цей факт можна пояснити наступним. Відомо, що після одноразової внутрішньоочеревинної ін'єкції стрептозотоцин швидко перерозподіляється в

організмі та накопичується у β -клітинах острівців підшлункової залози з наступним їх ураженням. Водночас, доведено, що у лужному та нейтральному середовищі STZ швидко інактивується із втратою діабетогенної активності [43]. З цим можна пов'язати відсутність суттєвої позитивної дії аміногуанідину на стан печінки та нирок при його повторному застосуванні з 2 по 28 добу експерименту у наших дослідах. Подібні результати були отримані іншими дослідниками, які вивчали вплив аміногуанідину на функцію ендотелію при STZ-цукровому діабеті у приматів при призначенні цього інгібітора NO-синтази від початку розвитку патологічного процесу. Більше того, у цих умовах спостерігалось прогресування розладів ендотеліальної функції [264].

Експериментальними та клінічними дослідженнями доведено, що глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) проявляє лікувальну активність при гострих і хронічних гепатитах, цирозі печінки, печінковій енцефалопатії, лептоспірозі, отруєнні гепатотропними отрутами, при метаболічній інтоксикації, яка виникає на тлі зниження антитоксичної функції печінки [4, 11, 26, 27, 37].

Зважаючи на те, що глутаргін є препаратом L-аргініну, для пояснення його ефективності при цукровому діабеті можна навести ряд механізмів позитивного впливу останнього при цій патології, зареєстрованих як в експерименті, так і в клініці. Зокрема, показано, що під дією L-аргініну зменшуються прояви ендотеліальної дисфункції, спричиненої високим рівнем глюкози, оксидативним стресом, гіперхолестеринемією та атеросклерозом [160, 185]. Доведено, що L-аргінін при STZ-діабеті збільшує біодоступність ендотеліального тетрагідробіоптерину (BH4) для синтезу оксиду азоту, плазмові концентрації аргініну та інсуліну, ендотеліальну концентрацію L-аргініну та BH4 та ендотеліальний синтез NO, не впливаючи на рівень глюкози в крові [196]. У свою чергу, NO позитивно впливає при діабеті на адипогенез, ліполіз, базальне та стимульоване інсуліном захоплення глюкози [200]. Встановлено також, що утворення NO, опосередковане eNOS, є необхідним для реалізації інсулінового сигналу [171].

Застосування L-аргініну при експериментальному цукровому діабеті супроводжується помітним зменшенням артеріального тиску та зниженням рівнів глюкози у плазмі крові та сечі, порівняно з групою тварин, які не отримували корекції [192, 221]. Доведено також, що L-аргінін та інші попередники утворення NO послаблюють ступінь гепатоцелюлярного ушкодження при цукровому діабеті [116, 216]. L-аргінін стимулює утворення NO та зменшує прояви оксидативного стресу, пов'язаного з накопиченням АДМА – конкурентного інгібітора eNOS [102]. Одним з механізмів позитивного впливу L-аргініну у цьому випадку є відновлення активності eNOS щодо синтезу NO за рахунок постачання ферменту субстратом [111, 248]. Крім того, в умовах збільшеної концентрації глюкози та субоптимальних кількостей кофактора eNOS – тетрагідробіоптерину L-аргінін зменшує прояви оксидативного стресу, блокує утворення активних форм кисню, зокрема O_2^- , попереджує процеси нітрузування тирозину білків [117, 190, 193]. Позитивні ефекти L-аргініну при ЦД також пов'язують з стимуляцією новоутворення бета-клітин під впливом комплексних механізмів, які включають регуляцію на ядерному та мітохондріальному рівнях [272]. Одним з механізмів позитивного впливу екзогенного L-аргініну при ЦД може бути відновлення кількості його ендogenous пулу. Відповідно до даних літератури, пошкодження печінки різної етіології сприяє наростанню у крові рівня ферменту аргінази, оскільки у цьому органі знаходяться найбільші запаси аргінази в організмі [93, 257]. Оскільки остання сприяє перетворенню L-аргініну на орнітин, виникає недостатність циркулюючого у крові L-аргініну і, як наслідок, розвивається недостатність синтезу NO та ендотеліальна дисфункція [5, 180]. На протилежність цьому, інгібування аргінази сприяє відновленню активності eNOS та функції ендотелію [94]. Відомо також, що першим етапом окиснювальної трансформації L-аргініну в організмі є його перетворення на N^o -гідроксиаргінін, який є інгібітором аргінази і який через цей механізм може підвищувати кількість внутрішньоклітинного L-аргініну [17].

Глутаргін почали призначати пацієнтам при ускладненнях діабету порівняно недавно, але вже є свідчення його високої ефективності при цій патології [55, 59-61]. Зокрема, препарат позитивно впливає на прояви гепатопатії у хворих на ЦД 2 типу, покращує якість життя пацієнтів, зменшує глибину метаболічних розладів, в тому числі активує анаболічні процеси, сприяє нормалізації інтенсивності процесів пероксидації ліпідів та окиснювальної модифікації білків, покращує стан антиоксидантної системи, показники пігментного, вуглеводного та білкового обмінів [60], нормалізує реологічні властивості крові, відновлює чутливість рецепторного апарату еритроцитів до інсуліну, зменшує загрозу судинних ускладнень [61], прояви дисліпідемії та ендотеліальної дисфункції [59].

Оскільки вже на ранніх стадіях діабету відмічається пригнічення продукції NO в нирках, що зв'язується із зниженням активності нейрональної ізоформи NOS та зростанням деградації NO під впливом оксидативного стресу [219], не виключено, що встановлений нами позитивний вплив глутаргіну та L-аргініну на стан нирок завдячує їх антиоксидантним властивостям та стимуляції синтезу NO. Це підтверджується клінічними спостереженнями ефективності глутаргіну у хворих з ЦД та діабетичною нефропатією, де він покращує параметри міжклітинної взаємодії, сповільнює прогресування захворювання [55].

Інший компонент глутаргіну – глутамат також може робити позитивний внесок в ефективність препарату при досліджуваній патології, оскільки в процесі його перетворень в організмі утворюється глутамін [17]. Останній попереджує розвиток жирової дегенерації печінки, ступінь портальної ендотоксемії, рівень розчинних рецепторів фактору некрозу пухлин- α . З іншого боку, він є одним із інгредієнтів для синтезу гама-L-глутаміл-L-цистеїнгліцину, який має потужні антиоксидантні властивості [61]. Крім того, глутамін в організмі ссавців може безпосередньо трансформуватись у L-аргінін через ряд проміжних етапів за участю значної кількості ферментних систем, із кінцевим збільшенням пулу цієї амінокислоти [17]. Відомо також, що захисні ефекти

L-аргініну зв'язані не лише із зростанням синтезу NO, але й з його безпосередньою антиоксидантною активністю [17, 37].

Неоднозначний вплив аміногуанідину, зареєстрований у наших дослідах (з одного боку, зменшення рівнів глюкози та глікозильованого гемоглобіну, з іншого – відсутність суттєвих позитивних зрушень морфо-функціонального стану печінки та нирок при цій патології), ймовірно, завдячує різним механізмам його дії. Як зазначалося вище, аміногуанідин зменшує утворення кінцевих продуктів глікозилювання, в тому числі утворення глікозильованого гемоглобіну. Зважаючи на те, що AGEs мають негативний вплив на мембранні структури, руйнують NO, дефіцит якого характерний для цукрового діабету, аміногуанідин через гальмування їх утворення здатний певною мірою покращити прояви цього патологічного стану, зокрема зменшити процеси окисної модифікації білків [3, 9]. У дослідах на мишах із STZ-діабетом встановлена здатність аміногуанідину частково зменшувати прояви оксидативного стресу, що проявляється пригніченням утворення супероксидного аніон-радикалу та гідроген-пероксиду у тканині аорти піддослідних тварин [226].

Іншим механізмом позитивного впливу аміногуанідину при STZ-діабеті може бути пригнічення гіперпродукції ONOO⁻ за рахунок інгібування iNOS [8, 233]. Але зменшення активності iNOS під впливом аміногуанідину, не виключено, має протилежний вплив, оскільки NO, який синтезується за участю цієї ізоформи ферменту, має цитопротекторну дію, попереджує апоптоз печінкових клітин та зменшує ендотоксикоз, які викликаються різними факторами [3, 5, 6]. Крім того, встановлено, що аміногуанідин у концентраціях, які інгібують iNOS, погіршує кровопостачання підшлункової залози, а у більших дозах порушує секрецію інсуліну, хоча прямо не пошкоджує бета-клітини [91].

Погіршення стану печінки та нирок під впливом N-нітро-L-аргініну, яке зареєстроване у наших дослідах, підтверджує важливість підтримання синтезу NO при цій патології на належному рівні і пояснюється тим, що інгібітори NOS

неселективної дії негативно впливають на численні фізіологічні процеси, у яких бере участь NO, та поглиблюють ураження внутрішніх органів при різних патологічних станах, де адекватний синтез NO відіграє важливу роль у пристосувальних та захисних механізмах [3, 5].

Про значення підсилення утворення NO у гепато- та нефрозахисній дії попередників його синтезу, зокрема глутаргіну, свідчать і результати вивчення ефективності його комбінації з блокатором NOS аміногуанідином при стрептозотоциновому діабеті, описані у розділі 6.2. При цьому встановлено, що поєднання глутаргіну з аміногуанідином не мало суттєвого впливу на рівні глюкози крові чи глікозильованого гемоглобіну, порівняно з ізольованим застосуванням глутаргіну. Проте, при комбінованому введенні препаратів позитивний вплив глутаргіну на синтез NO у печінці та нирках нівелювався: рівень NO_2^- у цій групі був відповідно на 78 % та 100 % нижчим, ніж при застосуванні глутаргіну.

При введенні глутаргіну у комбінації з аміногуанідином зменшувався позитивний вплив першого препарату на прояви оксидативного стресу у гомогенатах печінки та нирок. При цьому кількість ГПЛ та ТБП, порівняно з тваринами, які отримували лише глутаргін, була більшою у печінці на 18 % та 25 %. У нирках при введенні комбінації препаратів вміст ГПЛ не відрізнявся, а ТБП – був на 10 % вищим, ніж у тварин, які отримували лише глутаргін.

При поєднанні препаратів рівень СОД у печінці, хоча й був на 11 % нижчим, ніж при патології, але водночас на 20 % перевищував величину, яка реєструвалась у групі тварин, що отримували глутаргін. У нирках наростання цього показника, порівняно із групою, де вводили лише глутаргін, сягало 52 %. Аналогічна тенденція відмічалась і при вивченні активності каталази.

Вміст G-SH у печінці при комбінуванні препаратів перевищував відповідні показники у тварин з STZ-діабетом та при монопризначенні аміногуанідину, але знижувався на 8 %, порівняно з групою, де використовували тільки глутаргін.

Рівень ЦХО у печінці збільшувався на 17 % під впливом глутаргіну, а при його поєднанні з аміногуанідином позитивний вплив препарату на цей показник повністю зникав.

Таким чином, під впливом L-аргініну-L-глутамату (глутаргіну) при його введенні з наступного дня після моделювання діабету, з 2 по 28 добу експерименту, достовірно зменшуються вміст глюкози в крові, рівень глікозильованого гемоглобіну, нормалізуються показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, системи мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст у сироватці крові маркерів ураження цих органів (АлАТ, лужної фосфатази, тимолової проби, креатиніну), що відбувається на тлі активації синтезу оксиду азоту.

Під впливом аміногуанідину при його призначенні з наступного дня після моделювання цукрового діабету, з 2 по 28 добу експерименту, у крові достовірно знижується вміст глюкози та глікозильованого гемоглобіну, але показники ураження печінки та нирок суттєво не відрізняються від серії тварин з STZ-діабетом без корекції, гальмується утворення оксиду азоту, що проявляється зниженням вмісту його стабільного метаболіту нітрит-аніону у печінці, нирках та сироватці крові.

Комбіноване застосування глутаргіну та аміногуанідину при гепато- та нефропатії, які розвиваються на тлі цукрового діабету, супроводжується погіршенням стану печінки та нирок за більшістю показників, що вивчалися, порівняно з групою тварин, яким вводили лише глутаргін, що підтверджує важливість активації синтезу оксиду азоту у реалізації гепато- та нефропротекторної дії глутаргіну при цій патології. Опосередкованим доказом позитивної ролі зростання утворення оксиду азоту для попередження ураження внутрішніх органів при ЦД може також бути відмічений суттєвий лікувальний ефект у хворих на ЦД 2 типу небівололу – високо селективного бета-адреноблокатора із виразним стимулюючим впливом на синтез NO. Під впливом препарату у хворих достовірно зменшувались рівні глікемії, мікроальбумінурії, покращувався функціональний стан нирок [1].

Таким чином, ґрунтуючись на отриманих нами результатах та існуючих даних літератури, можна стверджувати, що одним з важливих компонентів патогенезу ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті є пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередники його утворення – L-аргініну-L-глутамат (глутаргін) та L-аргінін здатні зменшити рівень глюкози крові та глікозильованого гемоглобіну еритроцитів, проявляють гепато- та нефропротекторну активність, що зв'язано з їх антиоксидантними властивостями та здатністю стимулювати синтез оксиду азоту.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та запропоноване нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає у встановленні ролі системи L-аргінін – оксид азоту у патогенезі ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті та доведенні позитивного впливу попередників синтезу оксиду азоту на порушення, які виникають.

1. Стрептозотоциновий діабет через 4 тижні від початку його моделювання супроводжується зростанням у крові рівнів глюкози – у 3,1 раза ($p < 0,001$), глікозильованого гемоглобіну – в 1,8 раза ($p < 0,001$), АлАТ – на 34 % ($p < 0,01$), АсАТ – на 42 % ($p < 0,02$), лужної фосфатази – на 64 % ($p < 0,001$), тимолової проби – на 29 % ($p < 0,01$), сечовини – на 46 % ($p < 0,001$), креатиніну на 9 % ($p < 0,02$), у печінці та нирках – активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів, компенсаторним підвищенням активності каталази та супероксиддисмутази, зниженням рівня відновленого глутатіону, активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази мітохондрій, що виникають на тлі зменшення вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту у печінці – на 22 % ($p < 0,05$), у нирках – на 17 % ($p < 0,001$), розвитку морфологічних ознак гепатопатії (дистрофічно-некротичних змін централобулярних гепатоцитів у поєднанні з дифузною інтерстиціальною лімфогістіоцитарною інфільтрацією) та нефропатії (явищ фокальної гіаліново-крапельної та вакуольної дистрофії з некрозом окремих клітин у проксимальних відділах каналців та субатрофією епітеліальних клітин – у дистальних каналцях, набрякання строми кіркової і мозкової речовини з явищами лімфоїдно-клітинної інфільтрації).

2. Прекурсор синтезу оксиду азоту L-аргінину-L-глутамат (глутаргін) при його введенні з 15 по 28 добу експерименту при STZ-діабеті сприяє збільшенню вмісту NO_2^- у печінці – на 81 % ($p < 0,001$), у нирках – на 80 % ($p < 0,001$), зниженню рівня гіперглікемії на 22 % ($p < 0,001$) та вмісту АлАТ і АсАТ у сироватці крові, зменшенню проявів оксидативного стресу та підвищенню вмісту сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази у

досліджуваних органах, редукції гістологічних ознак їх ураження, що проявляється у печінці нормалізацією структури гепатоцитів, переважно середньої частини печінкової часточки, у нирках – зменшенням у кірковій речовині набряку та лімфо-гістіоцитарної інфільтрації інтерстицію.

3. Гепато- та нефропротекторна активність L-аргініну-L-глутамату зростає при його застосуванні з 2 по 28 добу експерименту при STZ-діабеті, при цьому показники систем прооксиданти–антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, активність та вміст маркерів ураження цих органів у сироватці крові не відрізняються від аналогічних параметрів у контрольній групі тварин, що відбувається на тлі зменшення рівнів гіперглікемії – на 25 % ($p < 0,001$) та глікозильованого гемоглобіну – на 11 % ($p < 0,05$), з одночасним зростанням кількості NO_2^- у печінці – на 71 % ($p < 0,001$), у нирках – на 69 % ($p < 0,01$).

4. Попередник синтезу оксиду азоту L-аргінін при його введенні з 15 по 28 добу експерименту при STZ-діабеті сприяє зниженню рівня гіперглікемії на 14 % ($p < 0,01$), вмісту у печінці й нирках гідропероксидів ліпідів – на 16 % ($p < 0,001$) і 9 % ($p < 0,02$) та ТБК-активних продуктів – на 22 % ($p < 0,001$) і 12 % ($p < 0,001$) відповідно, покращанню стану антиоксидантної системи, зростанню активності сукцинатдегідрогенази, що відбувається на тлі збільшення вмісту NO_2^- у печінці та нирках й відновлення до рівнів контролю активності АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази, вмісту сечовини та креатиніну у сироватці крові.

5. Блокатор NO-синтази неселективної дії N-нітро-L-аргінін при його введенні з 15 по 28 добу експерименту при STZ-діабеті поглиблює дефіцит NO_2^- у печінці та нирках, викликає подальше прогресування порушень у системі прооксиданти–антиоксиданти у крові й досліджуваних органах та погіршення структурних ознак ураження, що проявляється у печінці – гострими або підгострими токсикодистрофічними процесами, з частковим некрозом паренхіми різного ступеня, вогнищевим розростанням сполучної тканини, у

нирках – генералізованим пошкодженням мікроциркуляторного руслу, частковим зникненням нормального клубочкового та каналцевого малюнків.

6. Ступінь негативного впливу інгібітора індукцйбельної NO-синтази аміногуанідину при його введенні з 15 по 28 добу експерименту на стан внутрішніх органів при STZ-діабеті, порівняно з N-нітро-L-аргініном, є меншим, проте він викликає зниження вмісту NO_2^- у печінці – на 25 % ($p < 0,01$), у нирках – на 29 % ($p < 0,001$), не відновлює порушення у системах прооксиданти–антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів, що відбувається на тлі збереження структурних ознак ураження: у печінці – дистрофічних змін паренхіми, клітинної інфільтрації порталних трактів та гострих розладів кровообігу, у нирках – дифузних дистрофічних змін епітелію каналців, явищ ексудації клубочків. При застосуванні аміногуанідину з 2 по 28 добу експерименту показники ураження печінки та нирок суттєво не відрізняються від таких у тварин з STZ-діабетом без корекції. Аміногуанідин знижує рівні гіперглікемії та глікозильованого гемоглобіну відповідно на 32 % ($p < 0,001$) і 29 % ($p < 0,01$) – при його введенні протягом 2 тижнів, та на 16 % ($p < 0,001$) і 15 % ($p < 0,05$) – при введенні протягом 4 тижнів експерименту.

7. У гепато- та нефрозахисній дії L-аргініну та L-аргініну-L-глутамату при стрептозотоциновому діабеті позитивну роль відіграє їх здатність підвищувати рівень синтезу оксиду азоту, що підтверджується погіршенням стану цих органів при введенні блокаторів NO-синтази (аміногуанідину і, особливо, N-нітро-L-аргініну) та нівелюванням нормалізуючого впливу L-аргініну-L-глутамату на більшість показників ураження печінки та нирок при його поєднанні з аміногуанідином, що супроводжується зменшенням вмісту NO_2^- в органах відповідно на 78 % ($p < 0,001$) та 100 % ($p < 0,001$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аметов А. С. Микроальбуминурия у больных сахарным диабетом 2-го типа и артериальной гипертензией. Возможности терапии / А. С. Аметов, Т. Ю. Демидова, С. А. Косых // Проблемы эндокринологии. – 2005. – Т. 51, № 4. – С. 3-6.
2. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
3. Аргинин в медицинской практике (Обзор литературы) / Ю. М. Степанов, И. М. Кононов, А. И. Журбина, А. Ю. Филиппова // Журн. АМН Украины. – 2004. – Т. 10, № 2. – С. 339–351.
4. Бабак О. Я. Застосування нового вітчизняного препарату глутаргіну в гастроентерології / О. Я. Бабак // Сучасна гастроентерологія. – 2003. – Т. 12, № 2. – С. 85–89.
5. Бабак О. Я. Механізми гепатопротекторного і токсического впливу азота оксиду / О. Я. Бабак, Н. В. Ярмыш, Г. Ю. Панченко // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – Т. 31, № 5. – С. 76–84.
6. Бабушкіна А. В. L-аргінин з точки зрення доказательної медицини / А. В. Бабушкіна // Укр. мед. часопис. – 2009. – Т. 74, № 6. – С. 43-48.
7. Балаболкин Л. И. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета (лекция) / Л. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова // Проблемы эндокринологии. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 29-34.
8. Бродяк І. В. Вплив аміногуанідину на активність NO-синтази в лейкоцитах периферичної крові за умов стрептозотоцинового діабету в щурів / І. В. Бродяк, Н. О. Сибірна // Експерим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2006. – № 3. – С. 45-48.

9. Бродяк І. В. Вплив аміногуанідину на окисну модифікацію білків при експериментальному цукровому діабеті у щурів / І. В. Бродяк, Н. О. Сибірна // Укр. біохім. журн. – 2006. – Т. 78, № 5. – С. 114–119.
10. Використання методу автоокиснення адреналіну для дослідження активності супероксиддисмутази еритроцитів периферичної крові щурів за умов цукрового діабету першого типу / Н. Сибірна, А. Федорович, В. Бурда [та ін.] // Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2006. – Вип. 41. – С. 16-20.
11. Волчик І. В. Гепатозахисна активність глутаргіну *in vitro* / І. В. Волчик, Л. М. Малоштан // Клінічна фармація. – 2004. – Т. 8, № 4. – С. 46–49.
12. Вплив L-аргініну та інгібіторів NO-синтази на стан антиоксидантної системи тромбоцитів за умов цукрового діабету першого типу / Н. Сибірна, О. Вовк, В. Бурда, А. Федорович // Вісник Львів. ун-ту. – 2004. – Вип. 38. – С. 50-56.
13. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
14. Глутаргін – механізм реалізації антитоксичних фармакологічних властивостей при гострих і хронічних ураженнях печінки / Ю. В. Меркулова, Л. О. Чайка, О. Н. Гомон [та ін.] // Ліки. – 2004. – № 1–2. – С. 91–98.
15. Гоженко А. И. Роль оксида азота в физиологии и патологии системы гомеостаза / Гоженко А. И., Бабий В. П., Бабиенко В. В. – Одесса, 2005. – 139 с.
16. Гоженко А. И. Эмиграция лейкоцитов и обмен оксида азота при воспалительных и опухолевых процессах / Гоженко А. И., Бабий В. П., Бабиенко В. В. – Одесса, 2005. – 222 с.
17. Граник В. Г. Метаболизм L-аргинина (обзор) / В. Г. Граник // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – Т. 37, № 3. – С. 3-20.

18. Експериментальне дослідження гепатопротекторних властивостей глутаргіну при патологічних станах різного генезу / К. А. Посохова, О. М. Олещук, В. В. Ніколаєва [та ін.] // Медицина сьогодні і завтра. – 2005. – № 1. – С. 15–20.
19. Епідеміологія цукрового діабету / М. Д. Тронько, А. С. Ефімов, В. І. Кравченко, В. І. Паньків. – К.: Ін-т ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, 1996. – 152 с.
20. Ефімов А. Диабетические ангиопатии: этиология и патогенез / А. Ефімов, Н. Зуева, Н. Скробонская // Ліки. – 2004. – № 11 (88). – С. 36–38.
21. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы // Методы биохимических исследований / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский. – Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. – С. 207–212.
22. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т.8, № 1. – С. 142–145.
23. Казанська О. О. Вплив деяких модуляторів синтезу оксиду азоту на рівні глюкози, глікозильованого гемоглобіну та нітрит-аніону при експериментальному цукровому діабеті / О. О. Казанська, К. А. Посохова // Тези доповідей Ювілейного VIII з'їзду ВУЛТ, Івано-Франківськ, 21–22 квітня 2005 р. – Київ, 2005. – С. 337.
24. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / Камышников В. С. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
25. Кардиоренальный синдром при сахарном диабете: факторы риска и механизмы развития / М. В. Шестакова, И. Р. Ярек-Мартынова, Н. С. Иванишина [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2005. – Т. 51, № 3. – С. 11-17.
26. Ковешніков О. В. Вплив глутаргіну на стан енергетичного метаболізму у комплексі хірургічного лікування хронічного калькульозного холециститу,

- поєднаного з патологією печінки / О. В. Ковешніков // Український медичний альманах. – 2003. – Т. 6, № 2. – С. 28–31.
27. Ковешніков О. В. Оцінка ефективності глутаргіну в комплексі хірургічного лікування хронічного калькульозного холециститу, поєднаного з патологією печінки / О. В. Ковешніков // Український медичний альманах. – 2003. – Т. 6, № 1. – С. 41–44.
28. Колб В. Г. Клиническая биохимия / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 1976. – 311 с.
29. Коржов В. И. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты (обзор литературы) / В. И. Коржов, В. Н. Жадан, М. В. Коржов // Журн. АМН України. – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 3-19.
30. Корпачев В. В. Вплив препаратів, що знижують глікемію, на вміст гомоцистеїну у крові хворих на цукровий діабет 2 типу в залежності від статі / В. В. Корпачев, А. В. Ковальчук, Н. М. Кушнар'ова // Ендокринологія. – 2009. – Т. 14, № 2. – С. 221-226.
31. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // Современные методы в биохимии [под ред. В.Н. Ореховича] / Р. С. Кривченкова. – М.: Медицина, 1977. – С. 47–49.
32. Лизогуб В. Г. Діабетична нефропатія: механізми розвитку, основні аспекти профілактики / В. Г. Лизогуб, Н. Є. Полюх // Ліки. – 2006. – № 1–2. – С. 15–17.).
33. Малышев И. Ю. Введение в биохимию оксида азота. Роль оксида азота в регуляции основных систем организма / И. Ю. Малышев // Российск. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1997. – № 1. – С. 49–55.
34. Манухина Е. Б. Оксид азота в сердечно-сосудистой системе: роль в адаптационной защите / Е. Б. Манухина, И. Ю. Малышев, Ю. В. Архипенко // Вестн. РАМН. – 2000. – Т. 4. – С. 16-21.

35. Маньковский Б. Н. Постпрандиальная гипергликемия и подходы к ее коррекции у больных сахарным диабетом / Б. Н. Маньковский // Журнал практичного лікаря. – 2000. – № 6. – С. 34-39.
36. Марков Х. М. О биорегуляторной системе L–аргинин – окись азота / Х. М. Марков // Пат. физиология и экспер. терапия. – 1996. – № 1. – С. 34–39.
37. Матяш В. І. Терапевтичні аспекти застосування глутаргіну (короткий огляд літературних даних) / В. І. Матяш, А. М. Печінка, Л. В. Мінова // Сучасні інфекції. – 2007. – № 3. – С. 56-59.
38. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
39. Могильницька Л. А. Вміст метаболітів оксиду азоту NO_2 та NO_3 у сироватці крові хворих на цукровий діабет 2–го типу з різною масою тіла / Л.А. Могильницька, Б.М. Маньковський // Буковинський медичний вісник. – 2001. – Т. 5, № 4. – С. 88–91.
40. Модифікація резистентності до діабетогенних факторів під впливом хронічного стресу та адаптації / Ю. М. Колесник, М. О. Орловський, М. А. Калініченко, Т. А. Грекова // Запорозж. мед. журн. – 2005. – № 3. – С. 21-26.
41. Орлова Е. А. Анализ нитритов и нитратов в ткани при экспериментальной острой почечной недостаточности / Е. А. Орлова // Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можасєва. – 2002. – Т. 3, № 1. – С. 79–82.
42. Орловский М. А. Закономерности формирования гипергликемии при экспериментальном сахарном диабете / М. А. Орловский // Патология. – 2004. – Т. 1, № 1. – С. 52-56.
43. Орловский М.А. Экспериментальные исследования сахарного диабета 1 типа: причины меж- и внутривидовых различий резистентности к диабетогенным факторам (обзор литературы и собственных исследований) / М. А. Орловский // Журн. АМН України. – 2006. – Т. 12, № 2. – С. 255-268.

44. Петренко Ю. М. Новые источники окиси азота, их возможная физиологическая роль и значение / Ю. М. Петренко, Д. А. Шашурин, В. Ю. Титов // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2001. – Т. 61, № 2. – С. 72–80.
45. Попова В. В. Содержание L-аргинина в крови и метаболитов оксида азота в крови и моче как метаболический маркер предиабета / В. В. Попова, Б. Н. Маньковский // Здоровье женщины. – 2002. – Т. 12, № 4. – С. 93-95.
46. Посохова К. А. Вплив L-аргініну та N-нітро-L-аргініну на деякі показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу за умов гострої циркуляторно-гемічної гіпоксії / К. А. Посохова, В. В. Буковська // Буковинський медичний вісник. – 2002. – Т. 6, № 3. – С. 185–190.
47. Посохова К. А. Зміни стану печінки під впливом глутаргіну при його призначенні у різні стадії розвитку цукрового діабету / К. А. Посохова, О. О. Чернухіна // Ліки та життя: Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес, 21–24 лютого 2006 р. : тези доповідей. – Київ, 2006. – С. 107.
48. Посохова К. А. Структурно-функціональні зміни у печінці при експериментальному цукровому діабеті й призначенні попередників синтезу оксиду азоту та інгібіторів NO-синтази / К. А. Посохова, О. О. Чернухіна // Фармакологія 2006 – крок у майбутнє : III Національний з'їзд фармакологів України, 17–20 жовтня 2006 р. : тези допов. – Одеса, 2006. – С. 139.
49. Пхакадзе О. Г. Вміст оксиду азоту і ендотеліну-1 у плазмі крові хворих на цукровий діабет 1 типу з різними стадіями діабетичної нефропатії / О. Г. Пхакадзе // Ендокринологія. – 2008. – Т. 13, № 2. – С. 220-226.
50. Результати застосування блокаторів синтезу оксиду азоту N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину при деяких патологічних станах / К. А. Посохова, О. М. Олещук, Л. Й. Плосканич [та ін.] // Здобутки клінічної і експериментальної медицини: матер. XLIX підс. наук.-практ. конф., 2 червня 2006 р. – Тернопіль: ТДМУ "Укрмедкнига", 2006. – С. 162–164.

51. Реутов В. П. Цикл оксида азота в организме млекопитающих и принцип цикличности / В. П. Реутов // Биохимия. – 2002. – Т. 67, № 3. – С. 353–376.
52. Роль гомоцистеина в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете 2-го типа / В. В. Потемкин, А. А. Кубатиев, Е. А. Абрамова [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2007. – Т. 53, № 3. – С. 10-13.
53. Садик Джарадат А. И. Влияние энтеросорбента Силикс на течение стеатоза печени у больных сахарным диабетом под контролем эходенситометрии печени / А. И. Садик Джарадат // Эндокринологія. – 2007. – Т. 12, № 2. – С. 270-275.
54. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 49–62.
55. Топчий И. И. Влияние глутаргина на экспрессию адгезивных молекул и функциональную активность нейтрофилов при диабетической нефропатии / И. И. Топчий, Г. А. Кордеро // Кровообіг та гемостаз. – 2005. – № 3–4. – С. 110–114.
56. Тронько Н. Д. Государственная комплексная программа „Сахарный диабет” / Н. Д. Тронько // Doctor. – 2003. – № 5. – С. 9–10.
57. Фролов В. М. Новый отечественный гепатопротектор глутаргин: клиническая эффективность и перспективы лечебного применения / В. М. Фролов // Новости медицины и фармации. – 2003. – Т. 136, № 8. – С. 5–6.
58. Хворостінка В. М. Патогенетичні аспекти уражень печінки у хворих на цукровий діабет / В. М. Хворостінка, Т. А. Моїсеєнко // Врачебная практика. – 2002. – № 3. – С. 61–65.
59. Хухліна О. С. Дисліпідемія та ендотеліальна дисфункція в патогенезі неалкогольного стеатогепатиту у хворих на цукровий діабет 2 типу, нові можливості їхньої корекції глутаргіном / О. С. Хухліна // Укр. терапевтичний журнал. – 2005. – № 2. – С. 39-43.
60. Хухліна О. С. Досвід застосування глутаргіну в комплексній терапії хронічного гепатиту у хворих на цукровий діабет 2 типу / О. С. Хухліна // Сучасна гастроентерологія. – 2003. – № 3. – С. 56–59.

61. Хухліна О. С. Стан оксидантно–прооксидантного гомеостазу та морфофункціональних властивостей еритроцитів у хворих на хронічний гепатит на тлі цукрового діабету II типу в динаміці лікування глутаргіном / О. С. Хухліна // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 88–90.
62. Чевари С. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–684.
63. Чекман И.С. Эндотелий сосудов и действие лекарственных средств / И.С. Чекман, Л.И. Казак // Фармакологічний вісник. – 2000. – № 4. – С. 34–37.
64. Чернухіна О. О. Відповідність результатів біохімічних та гістологічних досліджень стану нирок при експериментальному цукровому діабеті та призначенні модуляторів синтезу оксиду азоту // Сучасний стан та перспективи розвитку доказової медицини у вітчизняній охороні здоров'я: матер. всеукраїнської наук.-практ. конф., 28-29 травня 2009 р. – Тернопіль : ТДМУ "Укрмедкнига". – 2009. – С. 68-69.
65. Чернухіна О. Вплив N-нітро-L-аргініну на метаболічні процеси та структурні зміни у печінці та нирках при експериментальному цукровому діабеті // Матер. XIII Міжнар. медичного конгресу студентів та молодих вчених, 27-29 квітня 2009 р. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2009. – С. 37.
66. Чернухіна О. О. Вплив глутаргіну на структурно–функціональні зміни печінки при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки та перспективи внутрішньої медицини : Всеукраїнська наук.–практ. конф., 19–20 жовтн. 2006 р. : зб. наук. праць. – Тернопіль: ТДМУ "Укрмедкнига", 2006. – С. 82–83.
67. Чернухіна О. О. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клініч. і експерим. медицини / Матер. 3-ї наук.–практ. конф. "Актуальні питання

патології за умов дії надзвичайних факторів на організм”. – 2010. – № 2(13). – С. 156–157.

68. Чернухіна О. О. Зміни стану нирок під впливом глутаргіну та аміногуанідину при експериментальному цукровому діабеті / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова // Здобутки клінічної і експериментальної медицини: матер. XLIX підс. наук.–практ. конф., 2 червня 2006 р. – Тернопіль: ТДМУ "Укрмедкнига", 2006. – С. 174–175.
69. Чернухіна О. О. Зміни стану нирок при стрептозотоциновому діабеті та при призначенні L–аргініну та глутаргіну / О. О. Чернухіна // Матер. X Міжнар. медичного конгресу студентів і молодих учених, 11–13 травня 2006 р. – Тернопіль: Укрмедкнига. – 2006. – С. 239.
70. Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у нирках при експериментальному цукровому діабеті та призначенні блокаторів NO-синтаз / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Здобутки клінічної і експериментальної медицини: матер. підс. наук.–практ. конф., 4 червня 2009 р. – Тернопіль: ТДМУ "Укрмедкнига", 2009. – С. 150.
71. Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у нирках при експериментальному цукровому діабеті та призначенні модуляторів системи L-аргінін-оксид азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of Morphology). – 2010. – Т. 16, № 3. – С. 509-512.
72. Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів оксиду азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of Morphology). – 2009. – Т. 15, № 1. – С. 18-21.
73. Чернухіна О. Особливості впливу попередника та блокатора синтезу оксиду азоту на стан нирок при їх окремому та поєднаному застосуванні при цукровому діабеті / Олена Чернухіна // XIV Міжнар. медичн. конгрес студентів та молодих вчених, 13-15 квітня 2010 р. : матер. конгресу. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2010. – С. 40.

74. Чернухіна О. О. Патогенез ураження внутрішніх органів при експериментальному цукровому діабеті / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова // Здобутки клін. і експерим. медицини. / Матер. 1-ї наук.-практ. конф. "Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм", Тернопіль, 6-7 листопада 2008 р. – 2008. – № 2 (9). – С. 158-159.
75. Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клін. і експерим. медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 97-100.
76. Чернухіна О. О. Фармакологічна корекція системи L–аргінін–оксид азоту і стан печінки при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Мед. хімія. – 2007. – Т. 9, № 4. – С. 47–50.
77. Швед М. І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на патогенетичні ланки ураження печінки при цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Здобутки клін. та експерим. медицини. / Матер. 2-ї наук.-практ. конф. "Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм". – 2009. – № 2 (11). – С. 151.
78. Швед М. І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. – 3 (60). – С. 94-96.
79. Швед М. І. Вплив попередника та блокатора синтезу оксиду азоту при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан нирок при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна, К. А. Посохова // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. IV, № 3 (33). – С. 117-120.
80. Швед М. І. Морфофункціональна характеристика стану печінки при цукровому діабеті та призначенні модуляторів синтезу оксиду азоту / М. І. Швед, О. О. Чернухіна, К. А. Посохова // Здобутки клінічної і

експериментальної медицини: матер. підс. наук.–практ. конф., 8 червн. 2007 р. – Тернопіль: ТДМУ "Укрмедкнига", 2007. – С. 59–60.

81. Шевченко И. Т. Элементы вариационной статистики для медиков / И. Т. Шевченко, О. П. Богатов, Ф. П. Хрипта. – Київ: Здоров'я, 1970. – 107 с.
82. Экспериментальное исследование гипоаммониемической активности L–аргинина L–глутамата при подострой интоксикации аммония хлоридом / Ю. В. Меркулова, Л. А. Чайка, О. Н. Гомон, Л. И. Белостоцкая // Современные проблемы токсикологии. – 2000. – № 4. – С. 17–22.
83. A diabetic model for liver oxidant damage in mice / S. R. Jiao, B. Wang, C. Y. Huang [et al.] // Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi. – 2007. – Vol. 41. – P. 115–118.
84. ADMA injures the glomerular filtration barrier: role of nitric oxide and superoxide / Mukut Sharma, Zongmin Zhou, Hiroto Miura [et al.] // Am J Physiol Renal Physiol. – 2009. – Vol. 296 (Suppl.). – F1386-F1395.
85. Advanced glycation endproducts alter functions and promote apoptosis in endothelial progenitor cells through receptor for advanced glycation endproducts mediate overpression of cell oxidant stress / Chen J, Song M, Yu S [et al.] // Mol Cell Biochem. – 2010. – Vol. 335, N 1-2. – P. 137-146.
86. Advanced glycation endproducts increase EPC apoptosis and decrease nitric oxide release via MAPK pathways / Shen C, Li Q, Zhang YC [et al.] // Biomed Pharmacother. – 2010. – Vol. 64, N 1. – P. 35-43.
87. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury / A. Goldin, J. A. Beckman, A. M. Schmidt, M. A. Creager // Circulation. – 2006. – Vol. 114, N 6. – P. 597–605.
88. Aljofan M. High glucose increases expression of cyclooxygenase-2, increases oxidative stress and decreases the generation of nitric oxide in mouse microvessel endothelial cells / M. Aljofan, H. Ding // J Cell Physiol. – 2010. – Vol. 222, N 3. – P. 669-675.

89. Alterations in L-arginine and inflammatory markers in type 2 diabetic patients with and without microalbuminuria / N. Bariş, M. Erdoğan, E. Sezer [et al.] // *Acta Diabetol.* – 2009. – Vol. 46, N 4. – P. 309-316.
90. Ameliorative effect of berberine on endothelial dysfunction in diabetic rats induced by high-fat diet and streptozotocin / C. Wang, J. Li, X. Lv et al. // *Eur J Pharmacol.* – 2009. – Vol. 620, N 1-3. – P. 131-137.
91. Aminoguanidine downregulates expression of cytokine-induced Fas and inducible nitric oxide synthase but not cytokine-enhanced surface antigens of rat islet cells / B. Kuttler, A. Steveling, N. Klötting [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 2003. – Vol. 66, N 12. – P. 2437–2448.
92. Analysis of nitrate, nitrite and [15 N]–nitrate in biological fluids / L. Green, A. David, J. Glogovski [et al.] // *Anal. Biochem.* – 1982. – Vol. 126, N 1. – P. 131–138.
93. Arginase activity and magnesium levels in blood of children with diabetes mellitus / G. Bjelakovic, D. Sokolovic, S. Ljiljana [et al.] // *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* – 2009. – Vol. 20, N 4. – P. 319-334.
94. Arginase inhibition restores NOS coupling and reverses endothelial dysfunction and vascular stiffness in old rats / J. H. Kim, L. J. Bugaj, Y. J. Oh [et al.] // *J Appl Physiol.* – 2009. – Vol. 107, N 4. – P. 1249-1257.
95. Aronson D. Hyperglycemia and the pathobiology of diabetic complications / D. Aronson // *Adv Cardiol.* – 2008. – Vol. 45. – P. 1-16.
96. Aso Y. Cardiovascular disease in patients with diabetic nephropathy / Y. Aso // *Curr Mol Med.* – 2008. – Vol. 8, N 6. – P. 533-543.
97. Association between albuminuria and duration of diabetes and myocardial dysfunction and peripheral arterial disease among patients with stable coronary artery disease in the BARI 2D study / J. Escobedo, J. S. Rana, M. S. Lombardero // *Mayo Clinic Proceedings.* – 2010. – Vol. 85, N 1. – P. 41-46.
98. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and other endogenous nitric oxide synthase (NOS) inhibitors as an important cause of vascular insulin resistance /

- K. Toutouzas, M. Riga, E. Stefanadi, C. Stefanadis // *Horm Metab Res.* – 2008. – Vol. 40, N 9. – P. 655-659.
99. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase and a novel cardiovascular risk molecule / V. De Gennaro Colonna, M. Bianchi, V. Pascale [et al.] // *Med Sci Monit.* – 2009. – Vol. 15, N 4. – RA91- RA101.
100. Asymmetric dimethylarginine as a mediator of vascular dysfunction and a marker of cardiovascular disease and mortality: an intriguing interaction with diabetes mellitus / M. Anderssohn, E. Schwedhelm, N. Lüneburg [et al.] // *Diab Vasc Dis Res.* – 2010. – Vol. 7, N 2. – P. 105-118.
101. Asymmetric dimethylarginine is closely associated with the development and progression of nephropathy in patients with type 2 diabetes / K. Hanai, T. Babazono, I. Nyumura [et al.] // *Nephrol Dial Transplant.* – 2009. – Vol. 24, N 6. – P. 1884-1888.
102. Asymmetric dimethylarginine reduced erythrocyte deformability in streptozotocin-induced diabetic rats / Z. C. Yang, K. Xia, L. Wang [et al.] // *Microvasc Res.* – 2006. – Vol. 137, N 9. – P. 631–638.
103. Bachmann S. Nitric oxide in the kidney: synthesis, localization and function / S. Bachmann, P. Mundel // *Am. J. Kidney Dis.* – 1994. – Vol. 24. – P. 112–129.
104. Bagarolli R. A. Toll-like receptor 4 and inducible nitric oxide synthase gene polymorphisms are associated with Type 2 diabetes / R. A. Bagarolli, M. J. Saad, S. T. Saad // *J Diabetes Complications.* – 2010. – Vol. 24, N 3. – P. 192-198.
105. Baylis C. Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease / C. Baylis // *Nat Clin Pract Nephrol.* – 2006. – 2(4). – P. 209-220.
106. Beneficial effects of inducible nitric oxide synthase inhibitor on reperfusion injury in pig liver / M. Isobe, T. Katsuramaki, K. Hirata [et al.] // *Transplantation.* – 1999. – Vol. 68, № 6. – P. 803–813.

107. Beneficial effects of L-arginine–nitric oxide–producing pathway in rats treated with alloxan / A. Vasiljevic, B. Buzadzic, A. Korac [et al.] // *J Physiol.* – 2007. – Vol. 584, N 3. – P. 921-933.
108. Beneficial effects of L-arginine on reducing obesity: potential mechanisms and important implications for human health / J. R. McKnight, M. C. Satterfield, W. S. Jobgen [et al.] // *Amino Acids.* – 2010. – Vol. 135, N 2. – P. 573–581.
109. Boger R. H. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk marker in cardiovascular medicine and beyond / R. H. Boger // *Ann Med.* – 2006. – Vol. 38, N 2. – P. 126–136.
110. Boger R. H. L-Arginine improves vascular function by overcoming deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor / R. H. Boger, E. S. Ron // *Altern Med Rev.* – 2005. – Vol. 10, N 1. – P. 14–23.
111. Boger R. H. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the "L-arginine paradox" and acts as a novel cardiovascular risk factor / R. H. Boger // *J Nutr.* – 2004. – Vol. 134, N 1. – P. 2842S–2847S.
112. Booth G. Liver at 50% Greater Risk in Diabetes / G. Booth // *Diabetes In Control*: June 27, 2010, Issue N 527. – Режим доступа: http://www.diabetesincontrol.com/index.php?option=com_content&view=article&id=9504&catid=1&Itemid=17
113. Brownlee M. The pathology of diabetic complications. A unifying mechanism / M. Brownlee // *Diabetes.* – 2005. – Vol. 54. – P. 1615–1625.
114. Brown W. V. Microvascular complications of diabetes mellitus: renal protection accompanies cardiovascular protection / W. V. Brown // *Am J Cardiol.* – 2008. – Vol. 102, N 12A. – P. 10L-13L.
115. Calles–Escandon J. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective / J. Calles–Escandon, M. Cipolla // *Endocrine Reviews.* – 2001. – Vol. 22, N 1. – P. 36–52.

116. Can nitric oxide–generating compounds improve the oxidative stress response in experimentally diabetic rats? / A. M. Mohamadin, L. N. Hammad, M. F. El–Bab, H. S. Gawad // *Clin Exp Pharmacol Physiol.* – 2007. – Vol. 34, N 7. – P. 586–593.
117. Cardounel A. J. Endogenous methylarginines modulate superoxide as well as nitric oxide generation from neuronal nitric–oxide synthase: differences in the effects of monomethyl– and dimethylarginines in the presence and absence of tetrahydrobiopterin / A. J. Cardounel, Y. Xia, J. L. Zweier // *J Biol Chem.* –2005. – Vol. 280, N 9. – 7540–7549.
118. Ceriello A. Antioxidant anti-inflammatory treatment in type 2 diabetes / A. Ceriello, R. Testa // *Diabetes Care.* – 2009. – Vol. 32 (Suppl 2). – S232–S236.
119. Chattopadhyay P. Protective effect of L-arginine against necrosis and apoptosis induced by experimental ischemic and reperfusion in rat liver / P. Chattopadhyay, G. Shukla, A. K. Wahi // *The Saud Journal of gastroenterology.* – 2009. – Vol. 15, N 3. – P. 156–162.
120. Chemopreventive N-(4-hydroxyphenyl)retinamide (fenretinide) targets deregulated NF-kB and Mat1A genes in the early stages of rat liver carcinogenesis / M. M. Simile, G. Pagnan, F. Pastorino [et al.] // *Carcinogenesis.* – 2005. – Vol. 26, N 2. – P. 417–427.
121. Chronic exposure to a high fat diet induces hepatic steatosis, impairs nitric oxide bioavailability, and modifies the mitochondrial proteome in mice / H. B. Eccleston, K. K. Andringa, A. M. Betancourt et al. // *Antioxid Redox Signal.* – 2010. – Oct 4. Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20919931>
122. Cohen R. A. Role of nitric oxide in diabetic complications / R. A. Cohen // *Am J Ther.* – 2005. – Vol. 12, N 6. – P. 499–502.
123. C-reactive protein inhibits insulin activation of endothelial nitric oxide synthase via the immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif of

- FcgammaRIIB and SHIP-1 / K. Tanigaki, C. Mineo, I. S. Yuhanna [et al.] // *Circ Res.* – 2009. – Vol. 104, N 11. – P. 1275-1282.
124. Degradation products of streptozotocin do not induce hyperglycemia in rats / J. Y. Lee, M. J. Kim, C. K. Moon, J. H. Chung // *Biochem. Pharmacol.* – 1993. – Vol. 46, N 11. – P. 2111-2113.
125. Detrimental effect of oxidized LDL on endothelial arginine metabolism and transportation / W. Z. Zhang, K. Venardos, S. Finch, D. M. Kaye // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2008. – Vol. 40, N 5. – P. 920-928.
126. Development and validation of an all-cause mortality risk score in type 2 diabetes. The Hong Kong Diabetes Registry / Xilin Yang, Wing Yee So, P. C. Y. Tong [et al.] // *Arch Intern Med.* – 2008. – Vol. 168, N 5. – P. 451-457.
127. Diabetes and vascular disease: basic concepts of nitric oxide physiology, endothelial dysfunction, oxidative stress and therapeutic possibilities / V. K. Capellini, A. C. Celotto, C. F. Baldo [et al.] // *Curr Vasc Pharmacol.* – 2010. – Vol. 8, N 4. – P. 526-544.
128. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats / W. J. Fu, T. E. Haynes, R. Kohli [et al.] // *J Nutr.* – 2005. – Vol. 135, N 4. – P. 714-721.
129. Dietary L-arginine supplementation reduces white fat gain and enhances skeletal muscle and brown fat masses in diet-induced obese rats / W. Jobgen, C. J. Meininger, S. C. Jobgen [et al.] // *J Nutr.* – 2009. – Vol. 139, N 2. – P. 230-237.
130. Dimethylarginines in complicated type 1 diabetes: roles of insulin, glucose, and oxidative stress / G. Cighetti, I. Fermo, C. S. Aman [et al.] // *Free Radic Biol Med.* – 2009. – Vol. 47, N 3. – P. 307-311.
131. Early activation of vascular endothelium in nonobese, nondiabetic essential hypertensive patients with multiple metabolic abnormalities / C. Ferri, G. Desideri, R. Baldoncini [et al.] // *Diabetes.* – 1998. – Vol. 47. – P. 660-667.
132. Effect of age receptor blocker and/or anti-inflammatory coadministration in relation to glycation, oxidative stress and cytokine production in stz diabetic

- rats / M. M. El Seweid, S. E. El Swefy, R. S. Ameen, R. M. Hashem // *Pharmacol. Res.* – 2002. – Vol. 45, N 5. – P. 391-398.
133. Effect of diabetic duration on serum concentrations of endogenous inhibitor of nitric oxide synthase in patients and rats with diabetes / Y. Xiong, M. Lei, S. Fu, Y. Fu // *Life Sci.* – 2005. – Vol. 77, N 2. – P. 149–159.
134. Effect of peroxynitrite on endothelial L-arginine transport and metabolism / K. Venardos, Wei-Zheng Zhang, C. Langa, D. M. Kaye // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* – 2009. – Vol. 41, N 12. – P. 2522-2527.
135. Ellman G. Tissue sulfhydryl groups / G. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – N 83. – P. 70–77.
136. Endothelial cellular senescence is inhibited by nitric oxide: implications in atherosclerosis associated with menopause and diabetes / T. Hayashi, H. Matsui–Hirai, A. Miyazaki–Akita [et al.] // *PNAS.* – 2006. – Vol. 103, N 45. – P. 17018–17023.
137. Endothelial dysfunction and diabetes: possible role in kidney damage / M. Tesouro, R. Leo, R. Lauro, C. Cardillo // *G Ital Nefrol.* – 2009. – Vol. 26 (Suppl. 46). – P. 62-70.
138. Endothelial dysfunction as a target for prevention of cardiovascular disease / D. Versari, E. Daghini, A. Viridis [et al.] // *Diabetes Care.* – 2009. – Vol. 32, N 2. – S314-S321.
139. Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets / M. A. Potenza, S. Gagliardi, C. Nacci [et al.] // *Curr Med Chem.* – 2009. – Vol. 16, N 1. – P. 94-112.
140. Endothelial dysfunction in normal and abnormal glucose metabolism / R. J. Esper, J. O. Vilariño, R. A. Machado, A. Paragano // *Adv Cardiol.* – 2008. – Vol. 45. – P. 17-43.
141. Endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease results from advanced glycation end products (AGE)-mediated inhibition of endothelial

- nitric oxide synthase through RAGE activation / E. Linden, W. Cai, J. C. He [et al.] // *Clin J Am Soc Nephrol.* – 2008. – Vol. 3, N 3. – P. 691-698.
142. Endothelial dysfunction in type 1 diabetes / M. C. Bertoluci, G. V. Cé, A. M. da Silva, M. K. Puñales // *Arq Bras Endocrinol Metabol.* – 2008. – Vol. 52, N 2. – P. 416-426.
143. Endothelial nitric oxide synthase-dependent tyrosine nitration of prostacyclin synthase in diabetes in vivo / H. Nie, J. L. Wu, M. Zhang [et al.] // *Diabetes.* – 2006. – Vol. 55, N 11. – P. 3133–3141.
144. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms are associated with type 2 diabetes and the insulin resistance syndrome / L. D. Monti, C. Barlassina, L. Citterio [et al.] // *Diabetes.* – 2003. – Vol. 52. – P. 1270–1275.
145. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling and perivascular adipose oxidative stress and inflammation contribute to vascular dysfunction in a rodent model of metabolic syndrome / C. Marchesi, T. Ebrahimian, O. Angulo [et al.] // *Hypertension.* – 2009. – Vol. 54, N 6. – P. 1384-1392.
146. eNOS gene therapy exacerbates hepatic ischemia-reperfusion injury in diabetes: a role for eNOS uncoupling / J. W. Elrod, M. R. Duranski, W. Langston [et al.] // *Circ Res.* – 2006. – Vol. 99, N 1. – P. 78–85.
147. Evaluation of beta cell dysfunction by mixed meal tolerance test and oral L-arginine in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus / M. Ozbek, M. Erdogan, M. Karadeniz [et al.] // *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* – 2009. – Vol. 117, N 10. – P. 573-576.
148. Exercise and possible molecular mechanisms of protection from vascular disease and diabetes: the central role of ROS and nitric oxide / P. Newsholme, P. I. Homem De Bittencourt, C. O' Hagan [et al.] // *Clin Sci (Lond).* – 2009. – Vol. 118, N 5. – P. 341-349.
149. Exogenous nitric oxide and endogenous glucose-stimulated β -cell nitric oxide augment insulin release / S. R. Smukler, Lan Tang, M. B. Wheeler, A.M.F. Salapatek // *Diabetes.* – 2002. – Vol. 51. – P. 3450–3460.

150. Fleming I. Molecular mechanisms underlying the activation of eNOS / I. Fleming // *Pflugers Arch.* – 2010. – Vol. 459, N 6. – P. 793-806.
151. Foxo1 links hyperglycemia to LDL oxidation and endothelial nitric oxide synthase dysfunction in vascular endothelial cells / J. Tanaka, L. Qiang, A. S. Banks, C. L. Welch [et al.] // *Diabetes.* – 2009. – Vol. 58, N 10. – P. 2344-2354.
152. Forstermann U. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace / U. Forstermann, T. Munzel // *Circulation.* – 2006. – Vol. 113, N 13. – P. 1708–1714.
153. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol [et al.] // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2007. – Vol. 39, N 1. – P. 44–84.
154. Friederich M. Diabetes, oxidative stress, nitric oxide and mitochondria function / M. Friederich, P. Hansell, F. Palm // *Curr Diabetes Rev.* – 2009. – Vol. 5, N 2. – P. 120-144.
155. Fu W. J. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats / W. J. Fu, T. E. Haynes, R. Kohli // *J Nutr.* – 2005. – Vol. 135, N 40. – P. 714–721.
156. Gastrointestinal dysfunction in diabetic rats relates with a decline in tissue L-arginine content and consequent low levels of nitric oxide / S. N. Umathe, N. I. Kochar, N. S. Jain, P.V. Dixit // *Nitric Oxide.* – 2009. – Vol. 20, N 2. – P. 129-133.
157. Gender is related to alterations of renal endothelial function in type 2 diabetes / M. P. Schneider, M. Ritt, U. Raff [et al.] // *Nephrol Dial Transplant.* – 2009. – Vol. 24, N 11. – P. 3354-3359.
158. Ghasemi A. Reference values for serum nitric oxide metabolites in an adult population / A. Ghasemi, S. Zahediasl, F. Azizi // *Clin Biochem.* – 2010. – Vol. 43, N 1-2. – P. 89-94.
159. Goldberg R. B. Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes

- and its complications / R. B. Goldberg // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2009. – Vol. 94, N 9. – P. 3171-3182.
160. Gornik H. L. Arginine and endothelial and vascular health / H. L. Gornik, M. A. Creager // *J Nutr.* – 2004. – Vol. 134, N 10. – 2880S–2887S.
161. Gugliucci A. A practical method to study functional impairment of proteins by glycation and effects of inhibitors using current coagulation/fibrinolysis reagent kits / A. Gugliucci // *Clin Biochem.* – 2003. – Vol. 36, N 2. – P. 155–158.
162. Gugliucci A, Menini T. The botanical extracts of *Achyrocline satureoides* and *Ilex paraguariensis* prevent methylglyoxal–induced inhibition of plasminogen and antithrombin III / A. Gugliucci, T. Menini // *Life Sci.* –2002. – Vol. 72, N 3. – P. 279–292.
163. Hadi H. A. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus / H. A. Hadi, J. A. Suwaidi // *Vasc Health Risk Manag.* – 2007. – 3(6). – P. 853-876.
164. Haluzik M. The role of nitric oxide in the development of streptozotocin–induced diabetes mellitus: experimental and clinical implications / M. Haluzik, J. Nedvidkova // *Physiol. Res.* – 2000. – Vol. 49 (Suppl 1). – P. 37–42.
165. Hedrick C. Defective insulin secretion is a hallmark of both Type 1 and Type 2 diabetes / C. Hedrick // *Diabetes In Control.* – 2010, Issue N 526. Режим доступа:
http://www.diabetesincontrol.com/index.php?option=com_content&view=article&id=9504&catid=1&Itemid=17
166. High fat feeding and dietary L-arginine supplementation differentially regulate gene expression in rat white adipose tissue / W. Jobgen, W. J. Fu, H. Gao [et al.] // *Amino Acids.* – 2009. – Vol. 37, N 1. – P. 187-198.
167. Highlander P. Current pharmacotherapeutic concepts for the treatment of cardiovascular disease in diabetics / P. Highlander, G. P. Shaw // *Ther Adv Cardiovasc Dis.* – 2010. – Vol. 4, N 1. – P. 43-54.

168. Hodis J. Nitric oxide in patients with obesity and metabolic syndrome / J. Hodis, N. Gaier, H. Farghali // *Cas Lek Cesk.* – 2009. – Vol. 148, N 1. – P. 34-38.
169. Hollenberg S. M. Bench-to-bedside review: nitric oxide in critical illness – update 2008 / S. M. Hollenberg, I. Cinel // *Crit Care.* – 2009. – Vol. 13, N 4. – P. 218.
170. Hon W. M. Nitric oxide in liver diseases: friend, foe, or just passerby / W. M. Hon, K.H. Lee, H. E. Khoo // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2002. – Vol. 962. – P. 275-295.
171. Hsu M. F. Enhancement of insulin responsiveness by nitric oxide-mediated inactivation of protein-tyrosine phosphatases / M. F. Hsu, T. C. Meng // *J Biol Chem.* – 2010. – Vol. 285, N 11. – P. 7919-7928.
172. Human alanine-glyoxylate aminotransferase 2 lowers asymmetric dimethylarginine and protects from inhibition of nitric oxide production / Rodionov RN, Murry DJ, Vaulman SF [et al.] // *J Biol Chem.* – 2010. – Vol. 285, N 8. – P. 5385-5391.
173. Hyperglycaemia-induced superoxide production decreases eNOS expression via AP-1 activation in aortic endothelial cells. / S. Srinivasan, M.E. Hatley, D.T. Bolick [et al.] // *Diabetologia.* – 2004. – Vol. 47, N 10. – P. 1727–1734.
174. Ibdah J. A. Nonalcoholic fatty liver disease and mitochondrial dysfunction / J. A. Ibdah // *World J. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 14, N 2. – P. 193–199.
175. Impact of the endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism on renal endothelial function in patients with type 2 diabetes / M. Ritt, C. Ott, C. Delles [et al.] // *Pharmacogenet Genomics.* – 2008. – Vol. 18, N 8. – P. 699-707.
176. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in women with previous gestational diabetes / E. Anastasiou, J. P. Lekakis, M. Alevizaki [et al.] // *Diabetes Care.* – 1998. – Vol. 21. – P. 2111–2115.

177. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase / K. Y. Lin, A. Ito, T. Asagami [et al.] // *Circulation*. – 2002. – Vol. 106, N 8. – P. 987–992.
178. Imrie H. Insulin resistance, lipotoxicity and endothelial dysfunction / H. Imrie, A. Abbas, M. Kearney // *Biochim Biophys Acta*. – 2010. – Vol. 1801, N 3. – P. 320-326.
179. Inducible nitric oxide synthase activity and expression in liver and hepatocytes of diabetic rats / Z. Madar, S. Kalet-Litman, A. H. Stark // *Pharmacology*. – 2005. – Vol. 73, N 2. – P. 106-112.
180. Insulin reduces plasma arginase activity in type 2 diabetic patients / S. R. Kashyap, A. Lara, R. Zhang [et al.] // *Diabetes Care*. – 2008. – Vol. 31, N 1. – P. 134-139.
181. Insulin resistance and endothelial cell dysfunction: studies in mammalian models / M. T. Kearney, E. R. Duncan, M. Kahn, S. B. Wheatcroft // *Exp Physiol*. – 2008. – Vol. 93, N 1. – P. 158-163.
182. Insulin resistance and endothelial dysfunction in type 2 diabetes patients with or without microalbuminuria / Yu Y, Suo L, Yu H [et al.] // *Diabetes Res Clin Pract*. – 2004. – Vol. 65, N 2. – P. 95–104.
183. Involvement of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in tubulointerstitial ischaemia in the early phase of diabetic nephropathy / R. Shibata, S. Ueda, S.-i. Yamagishi [et al.] // *Nephrology Dialysis Transplantation*. – 2009. – Vol. 24. – P. 1162-1169.
184. Jude E. B. Effect of L-arginine on the microcirculation in the neuropathic diabetic foot in Type 2 diabetes mellitus: a double-blind, placebo-controlled study / E. B. Jude, C. Dang, A. J. Boulton // *Diabet Med*. – 2010. – Vol. 27, N 1. – P. 113-116.
185. Kabat A. L-arginine supplementation prevents the development of endothelial dysfunction in hyperglycaemia / A. Kabat, S. Dhein // *Pharmacology*. – 2006. – Vol. 76, N 4. – P. 185–191.

186. Kelm V. Endothelial dysfunction in human coronary circulation: relevance of the L-arginine-NO pathway / V. Kelm, J. Rath // *Basic Res. Cardiol.* – 2001. – Vol. 96. – P. 107–127.
187. Kim H. Y. Beneficial effects of chinese prescription Kangen-karyu on diabetes associated with hyperlipidemia, advanced glycation endproducts, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats / H. Y. Kim, T. Okamoto, T. Yokozawa // *J Ethnopharmacol.* – 2009. – Vol. 124, N 2. – P. 263-269.
188. Kim J.-a. Role of mitochondrial dysfunction in insulin resistance / J.-a. Kim, Y. Wei, J. R. Sowers // *Circ. Res.* – 2008. – Vol. 102, N 4. – P. 401-414.
189. Kmiec Z. Cooperation of liver cells in health and disease / Z. Kmiec // *Adv Anat Embryol Cell Biol.* – 2001. – Vol. 161, N III–XIII. – P. 146–151.
190. Kochar N. I. Beneficial effects of L-arginine against diabetes-induced oxidative stress in gastrointestinal tissues in rats / N. I. Kochar, S. N. Umathe // *Pharmacol Rep.* – 2009. – Vol. 61, N 4. – P. 665-672.
191. Kocić R. New aspects about the impact of oxidative stress on development of chronic diabetic complications / R. Kocić, V. Cirić // *Med Pregl.* – 2009. – Vol. 62 (Suppl 3). – P. 70-74.
192. Kohli R. Dietary L-arginine supplementation enhances endothelial nitric oxide synthesis in streptozotocin-induced diabetic rats / R. Kohli, C. J. Meininger, T. E. Haynes // *J Nutr.* – 2004. – Vol. 134, N 3. – P. 600–608.
193. Komers R. Paradoxes of nitric oxide in the diabetic kidney / R. Komers, Sh. Anderson // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2003. – Vol. 284, N 6. – P. 1121–1137.
194. Landim M. B. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis / M. B. Landim, A. Casella Filho, A. C. Chagas // *Clinics (Sao Paulo).* – 2009. – Vol. 64, N 5. – P. 471-478.
195. L-arginine and antioxidant diet supplementation partially restores nitric oxide-dependent regulation of phenylephrine renal vasoconstriction in diabetics rats / I. Coronel, M. G. Arellano-Mendoza, L. del Valle-Mondragon [et al.] // *J Ren Nutr.* – 2010. – Vol. 20, N 3. – P. 158-168.

196. L-Arginine prevents metabolic effects of high glucose in diabetic mice / M. B. West, K. V. Ramana, K. Kaiserova [et al.] // FEBS Lett. – 2008. – Vol. 582, N 17. – P. 2609-2614.
197. L-arginine supplementation normalizes bone turnover and preserves bone mass in streptozotocin-induced diabetic rats / P. Pennisi, G. Clementi, A. Prato [et al.] // J Endocrinol Invest. – 2009. – Vol. 32, N 6. – P. 546-551.
198. Loss of arterial and renal nitric oxide bioavailability in hypertensive rats with diabetes: effect of beta-blockers / R. P. Mason, R. Kubant, R. F. Jacob [et al.] // Am J Hypertens. – 2009. – Vol. 22, N 11. – P. 1160-1166.
199. Maeda Y. Oxidative stress / Y. Maeda, T. Inoguchi // Nippon Rinsho. – 2010. – Vol. 68, N 5. – P. 814-818.
200. McGrowder D. Modulation of glucose uptake in adipose tissue by nitric oxide-generating compounds / D. McGrowder, D. Ragoobirsingh, P. Brown // J Biosci. – 2006. – Vol. 31, N 3. – P. 347-354.
201. Metabolism of nitric oxide (NO) and arginine: significance for male health / M. J. Mathers, A. S. Brandt, F. Rundstedt [et al.] // Aktuelle Urol. – 2009. – Vol. 40, N 4. – P. 235-241.
202. Michel T. Cellular signaling and NO production / T. Michel, P. M. Vanhoutte // Pflugers Arch. – 2010. – Vol. 459, N 6. – P. 807-816.
203. Microalbuminuria and endothelial dysfunction: emerging targets for primary prevention of end-organ damage / P. Ochodnický, R. H. Henning, R. P. van Dokkum, D. de Zeeuw // J Cardiovasc Pharmacol. – 2006. – Vol. 47 (Suppl. 2). – S151-S162.
204. Mokini Z. Molecular pathology of oxidative stress in diabetic angiopathy: role of mitochondrial and cellular pathways / Z. Mokini, M. L. Marcovecchio, F. Chiarelli // Diabetes Res Clin Pract. – 2010. – Vol. 87, N 3. – P. 313-321.
205. Mombouli J. V. ACE inhibition, endothelial function and coronary artery lesions. Role of kinins and nitric oxide / J. V. Mombouli // Drugs. – 1997. – Vol. 54 (Suppl 5). – P. 12-22.

206. Muniyappa R. An integrated view of insulin resistance and endothelial dysfunction / R. Muniyappa, M. Iantorno, M. J. Quon // *Endocrinol Metab Clin North Am.* – 2008. – Vol. 37. – P. 685–711.
207. Nacci C. Molecular and clinical aspects of endothelial dysfunction in diabetes / C. Nacci, M. Tarquinio, M. Montagnani // *Intern Emerg Med.* – 2009. – Vol. 4, N 2. – P. 107-116.
208. Nakagawa T. A new mouse model resembling human diabetic nephropathy: uncoupling of VEGF with eNOS as a novel pathogenic mechanism / T. Nakagawa // *Clin Nephrol.* – 2009. – Vol. 71, N 2. – P. 103-109.
209. Napoli C. Nitric oxide and pathogenic mechanisms involved in the development of vascular diseases / C. Napoli, L. J. Ignarro // *Arch Pharm Res.* – 2009. – Vol. 32, N 8. – P. 1103-1108.
210. Nine-year incident diabetes is predicted by fatty liver indices: the French D.E.S.I.R. study / B. Balkau, C. Lange, S. Vol [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 10, N 1. – P. 56.
211. Nishio Y. Endothelial dysfunction in diabetes / Y. Nishio // *Nippon Rinsho.* – 2010. – Vol. 68, N 5. – P. 823-826.
212. Nitenberg A. Vascular endothelium: a target organ for diabetes mellitus / A. Nitenberg // *Ann Endocrinol (Paris).* – 2002. – Vol. 63 (2 Pt 2). – 1S13–1S17.
213. Nitric oxide and oxidative stress / V. Chromy, H. Konecna, R. Jedlickova [et al.] // *Biochem. Clin. Bohemoslov.* – 1986. – Vol. 15. – P. 327.
214. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87. – P. 315–424.
215. Nitric oxide and superoxide dismutase modulate endothelial progenitor cell function in type 2 diabetes mellitus / S. Hamed, B. Brenner, A. Aharon [et al.] // *Cardiovasc Diabetol.* – 2009. – Vol. 8. – P. 56.
216. Nitric oxide attenuates ischaemia–reperfusion (I/R) injury in the diabetic liver / H. Rogers 3rd, G. B. Zibari, J. Roberts [et al.] // *Clin Transplant.* – 2004. – Vol. 18 (Suppl 12). – P. 7–11.

217. Nitric oxide originating from NOS1 controls oxygen utilization and electrolyte transport efficiency in the diabetic kidney / F. Palm, A. Fasching, P. Hansell, O. Källskog // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2010. – Vol. 298, N 2 (Suppl.). – F416-F420.
218. Nitric oxide synthase inhibition reduces glucose uptake during exercise in individuals with type 2 diabetes more than in control subjects / B. A. Kingwell, M. Formosa, M. Muhlmann [et al.] // *Diabetes.* – 2002. – Vol. 51. – P. 2572–2580.
219. Nitric oxide synthesis and oxidative stress in the renal cortex of rats with diabetes mellitus / N. Ishii, K. P. Patel, P. H. Lane [et al.] // *J Am Soc Nephrol.* – 2001. – Vol. 12, N 8. – P. 1630–1639.
220. Nitric oxide synthesis is reduced in subjects with Type 2 Diabetes and nephropathy / P. Tessari, D. Cecchet, A. Cosma [et al.] // *Diabetes.* – 2010. – Vol. 52, N 5. – P. 753-759.
221. Nitric oxide: the "second messenger" of insulin / N. N. Kahn, K. Acharya, S. Bhattacharya [et al.] // *IUBMB Life.* – 2000. – Vol. 49, N 5. – P. 441–450.
222. Nitric oxide's reactions with hemoglobin: a view through the SNO-storm / M. Gladwin, J. Lancaster, B. Treeman, A. Schechter // *Nat. Med.* – 2003. – Vol. 9, N 5. – P. 496–500.
223. NO-glibenclamide derivatives: prototypes of a new class of nitric oxide-releasing anti-diabetic drugs / V. Calderone, S. Rapposelli, A. Martelli [et al.] // *Bioorg Med Chem.* – 2009. – Vol. 17, N 15. – P. 5426-5432.
224. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes / Z. M. Younossi, T. Gramlich, C. A. Matteoni // *Clin Gastroenterol Hepatol.* – 2004. – Vol. 2, N 3. – P. 262–265.
225. Nonalcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased incidence of cardiovascular events in type 2 diabetic patients / G. Targher, L. Bertolini, S. Rodella [et al.] // *Diabetes Care.* – 2007. – Vol. 30, N 8. – P. 2119–2121.

226. Oak J. H. Aminoguanidine inhibits aortic hydrogen peroxide production, VSMC NOX activity and hypercontractility in diabetic mice / J. H. Oak, J. Y. Youn, H. Cai // *Cardiovasc Diabetol.* – 2009. – Vol. 8. – P. 65.
227. Oxidative stress and nitric oxide synthase in rat diabetic nephropathy: effects of ACEI and ARB / M. L. Onozato, A. Tojo, A. Goto [et al.] // *Kidney Int.* – 2002. – Vol. 61, N 1. – P. 186–194.
228. Oxidative stress, endothelial dysfunction and atherosclerosis / V. M. Victor, M. Rocha, E. Solá [et al.] // *Curr Pharm Des.* – 2009. – Vol. 15, N 26. – P. 2988–3002.
229. Pacher P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87. – P. 315–424.
230. Pacher P. Role of peroxynitrite in the pathogenesis of cardiovascular complications of diabetes / P. Pacher, C. Szabo // *Curr Opin Pharmacol.* – 2006. – Vol. 6, N 2. – P. 136–141.
231. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease / M. Duvnjak, I. Lerotic, N. Barsic [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 13, N 34. – P. 4539–4550.
232. Peroxynitrite-induced protein nitration is responsible for renal mitochondrial damage in diabetic rat / J. H. Liang, Y. N. Li, J. S. Qi, X. X. Jia // *J Endocrinol Invest.* – 2010. – Vol. 33, N 3. – P. 140–146.
233. Peroxynitrite plays a key role in glomerular lesions in diabetic rats / H. Xiao, Y. Li, J. Qi [et al.] // *J Nephrol.* – 2009. – Vol. 22, N 6. – P. 800–808.
234. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) predicts cardiovascular morbidity and mortality in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy / M. Lajer, L. Tarnow, A. Jorsal [et al.] // *Diabetes Care.* – 2008. – Vol. 31, N 4. – P. 747-752.
235. Platelet abnormalities in type 2 diabetes mellitus / C. Matadamas-Zárata, J. Hernández-Jerónimo, E. Pérez-Campos, A. Majluf-Cruz // *Arch Cardiol Mex.* – 2009. – Vol. 79 (Suppl 2). – P. 102-108.

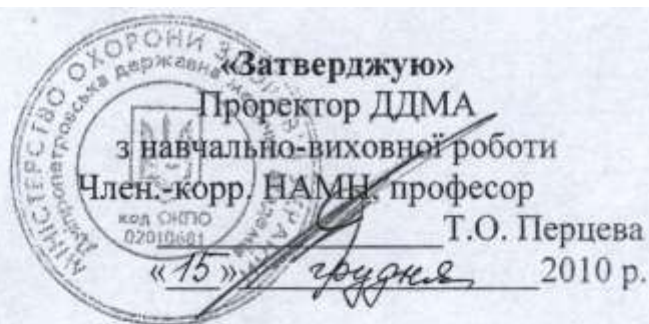
236. Pope A. J. Role of the PRMT-DDAH-ADMA axis in the regulation of endothelial nitric oxide production / A. J. Pope, K. Karuppiah, A. J. Cardounel // *Pharmacol Res.* – 2009. – Vol. 60, N 6. – P. 461-465.
237. Porepa L. Newly diagnosed diabetes mellitus as a risk factor for serious liver disease / L. Porepa // *CMAJ* 2010. – *Diabetes In Control.* – 2010, Issue N 526. – Режим доступа:
http://www.diabetesincontrol.com/index.php?option=com_content&view=article&id=9504&catid=1&Itemid=17
238. Potdar S. NO/peroxynitrite dynamics of high glucose-exposed HUVECs: chemiluminescent measurement and computational model / S. Potdar, M. Kavdia // *Microvasc Res.* – 2009. – Vol. 78, N 2. – P. 191-198.
239. Potenza M. Vascular actions of insulin with implications for endothelial dysfunction / M. A. Potenza, F. Addabbo, M. Montagnani // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2009. – Vol. 297, N 3. – P. 568-577.
240. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients / G. Targher, L. Bertolini, R. Radovani [et al.] // *Diabetes Care.* – 2007. – Vol. 30, N 5. – P. 1212–1218.
241. Reitman S. Colorimetric assay of the transaminase activity / S. Reitman, S. A. Frenkel // *Amer. J. Clin. Pathol.* – 1957. – Vol. 28, N 1. – P. 56–60.
242. Relation of baseline plasma ADMA levels to cardiovascular morbidity and mortality at two years in men with diabetes mellitus referred for coronary angiography / E. Cavusoglu, C. Ruwende, V. Chopra [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2010. – Vol. 210, N 1. – P. 226–231.
243. Relationship of baseline plasma ADMA levels to cardiovascular outcomes at 2 years in men with acute coronary syndrome referred for coronary angiography / E. Cavusoglu, C. Ruwende, V. Chopra [et al.] // *Coron Artery Dis.* – 2009. – Vol. 20, N 2. – P. 112–117.
244. Renal nitric oxide production during the early phase of experimental diabetes mellitus / S. Keynan, B. Hirshberg, N. Levin–Laina [et al.] // *Kidney Int.* – 2000. – Vol. 58, N 2. – P. 740–747.

245. Review article: type 2 diabetes and chronic liver disease in the Verona diabetes study / M. Trombetta, G. Spiazzi, G. Zoppini, M. Muggeo // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2005. – Vol. 56 (Suppl 2). – P. 24–27.
246. Role of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in diabetic vascular complications / S. Yamagishi, S. Ueda, K. Nakamura [et al.] // *Curr Pharm Des.* – 2008. – Vol. 14, N 25. – P. 2613–2618.
247. Role of asymmetric-dimethyl-L-arginine (ADMA) and nitrite/nitrate (NOx) in the pathogenesis of oxidative stress in female subjects with uncomplicated type 1 diabetes mellitus / D. Pitocco, F. Zaccardi, E. Di Stasio [et al.] // *Diabetes Res Clin Pract.* – 2009. – Vol. 86, N 3. – P. 173–176.
248. Role of dimethylarginine dimethylaminohydrolases in the regulation of endothelial nitric oxide production / A. J. Pope, K. Karrupiah, P. N. Kearns [et al.] // *J Biol Chem.* – 2009. – Vol. 284, N 51. – P. 35338–35347.
249. Role of nitric oxide in liver injury / T. Chen, R. Zamora, B. Zuckerbraun, T. R. Billiar // *Curr Mol Med.* – 2003. – Vol. 3, N 6. – P. 519–526.
250. Role of oxidative stress in development of cardiovascular complications in diabetes mellitus / M. A. Haidara, H. Z. Yassin, M. Rateb [et al.] // *Curr Vasc Pharmacol.* – 2006. – Vol. 4, N 3. – P. 215–227.
251. Role of renal nitric oxide synthase in diabetic kidney disease during the chronic phase of diabetes / M. Khamaisi, S. Keynan, M. Bursztyn [et al.] // *Nephron Physiol.* – 2006. – Vol. 102, N 3–4. – P. 72–80.
252. Sanal M. G. The blind men “see” the elephant – the many faces of fatty liver disease / M. G. Sanal // *World J. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 14, N 6. – P. 831–844.
253. Sedlack J. Estimation of total protein sulfhydryl and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmans reagent / J. Sedlack, H. Lindsay // *Anal. Biochem.* – 1968. – Vol. 25 – P. 192–205.
254. Shahab A. Why does diabetes mellitus increase the risk of cardiovascular disease? / A. Shahab // *Acta Med Indones.* – 2006. – Vol. 38, N 1. – P. 33–41.

255. Shen G. X. Oxidative stress and diabetic cardiovascular disorders: roles of mitochondria and NADPH oxidase / G. X. Shen // *Can J Physiol Pharmacol.* – 2010. – Vol. 88, N 3. – P. 241–248.
256. Siasos G. L-Arginine, the substrate for NO synthesis: an alternative treatment for premature atherosclerosis? / G. Siasos, D. Tousoulis, C. Antoniades // *Int J Cardiol.* – 2007. – Vol. 116, N 3. – P. 300–308.
257. Sidney M. Arginine metabolism: boundaries of our knowledge / M. Sidney, Jr. Morris // *J. Nutr.* – 2007. – Vol. 137. – 1602S–1609S.
258. Stokic E. Endothelial dysfunction and diabetes / E. Stokic, M. Deric, D. Radak // *Med Pregl.* – 2005. – Vol. 58, N 9–10. – P. 459–464.
259. Study on the altered nitric oxide metabolism in experimental diabetes / T. Tabi, Z. Soltesz, K. Magyar, E. Szoko // *Acta Pharm Hung.* – 2006. – Vol. 76, N 1. – P. 19–23.
260. Sydow K. Insulin resistance: potential role of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor ADMA / K. Sydow, C. E. Mondon, J. P. Cooke // *Vasc Med.* – 2005. – Vol. 10 (Suppl 1). – S35–S43.
261. Synthesis, characterization and vasculoprotective effects of nitric oxide-donating derivatives of chrysin / X. Q. Zou, S. M. Peng, C. P. Hu [et al.] // *Bioorg Med Chem.* – 2010. – Vol. 18, N 9. – P. 3020–3025.
262. Temporal changes in vascular reactivity in early diabetes mellitus in rats: role of changes in endothelial factors and in phosphodiesterase activity / K. Abboud, J. C. Bassila, R. Ghali-Ghoul, R. Sabra // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2009. – Vol. 297, N 2. – P. H836–H845.
263. The effect of the nitric oxide donor sodium nitroprusside on glucose uptake in human primary skeletal muscle cells / D. C. Henstridge, B. G. Drew, M. F. Formosa [et al.] // *Nitric Oxide.* – 2009. – Vol. 21, N 2. – P. 126–131.
264. The effects of diabetes and aminoguanidine treatment on endothelial function in a primate model of type 1 diabetes / B. A. Brooks, S. Heffernan, S. Thomson [et al.] // *Am J Primatol.* – 2008. – Vol. 70, N 8. – P. 796–802.

265. The influence of improved glycaemic control with chlorpropamide on microvascular reactivity and nitric oxide synthase activity in diabetic rats / J. L. Sartoretto, R. A. Santos, C. Scavone [et al.] // *J Pharm Pharmacol.* – 2007. – Vol. 59, N 8. – P. 1117–1123.
266. The protective effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester and insulin on nitric oxide inhibition and pathology in experimental diabetic rat liver / H. Ozden, N. Tekin, F. Akyuz [et al.] // *Saudi Med J.* – 2009. – Vol. 30, N 1. – P. 30–34.
267. Thomas S. R. Redox control of endothelial function and dysfunction: molecular mechanisms and therapeutic opportunities / S. R. Thomas, P. K. Witting, G. R. Drummond // *Antioxid Redox Signal.* – 2008. – Vol. 10, N 10. – P. 1713–1765.
268. Three different oxygen-induced radical species in endothelial nitric-oxide synthase oxygenase domain under regulation by L-arginine and tetrahydrobiopterin / V. Berka, G. Wu, H.C. Yeh [et al.] // *J Biol Chem.* – 2004. – Vol. 279, N 31. – P. 32243–32251.
269. Toda N. Alteration of nitric oxide-mediated blood flow regulation in diabetes mellitus / N. Toda, T. Imamura, T. Okamura // *Pharmacol Ther.* – 2010. – Vol. 127, N 3. – P. 189–209.
270. Tulloch L. Diabetes and a large liver / L. Tulloch, N. J. Rukin, J. Creamer // *Lancet.* – 2007. – Vol. 370, N 9591. – P. 1006.
271. Turgut F. Potential new therapeutic agents for diabetic kidney disease / F. Turgut, W. K. Bolton // *Am J Kidney Dis.* – 2010. – Vol. 55, N 5. – P. 928–940.
272. Type 2 diabetes: one disease, multiple cardiovascular risk factors / J. Calles-Escandon, S. A. Mirza, E. Garcia-Rubi, A. Mortensen // *Coron Artery Dis.* – 1999. – Vol. 10. – P. 23–30.
273. Vascular endothelial dysfunction: a tug of war in diabetic nephropathy? / P. Balakumar, V. A. Chakkarwar, P. Krishan, M. Singh // *Biomed Pharmacother.* – 2009. – Vol. 63, N 3. – P. 171–179.

274. Wang R. Hydrogen sulfide: the third gasotransmitter in biology and medicine / R. Wang // *Antioxid Redox Signal.* – 2010. – Vol. 12, N 9. – P. 1061–1064.
275. WB1106, a novel nitric oxide–releasing derivative of telmisartan, inhibits hypertension and improves glucose metabolism in rats / Y. Q. Li, H. Ji, Y. H. Zhang [et al.] // *Eur J Pharmacol.* – 2007. – Vol. 378, N 8. – P. 2437–2441.
276. Woodman R. J. Mechanisms, significance and treatment of vascular dysfunction in type 2 diabetes mellitus: focus on lipid–regulating therapy / R. J. Woodman, G. T. Chew, G. F. Watts // *Drugs.* – 2005. – Vol. 65, N 1. – P. 31–74.
277. Wu G. Nitric oxide and vascular insulin resistance / G. Wu, C.J. Meininger // *Biofactors.* – 2009. – Vol. 35, N 1. – P. 21–27.
278. Zahedi Asl S. Serum nitric oxide metabolites in subjects with metabolic syndrome / Asl S. Zahedi, A. Ghasemi, F. Azizi // *Clin Biochem.* – 2008. – Vol. 41, N 16-17. – P. 1342–1347.
279. Zoi M. H. Peroxynitrite and protein tyrosine nitration of prostacyclin synthase / M. H. Zoi // *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* – 2007. – Vol. 82, N 1–4. – P. 119–127.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Вплив стимуляторів та блокаторів синтезу оксиду азоту на патогенез ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті»
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ВДНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського", кафедра внутрішньої медицини № 1. Аспірант – О. О. Чернухіна.
3. **Джерела інформації:**
 - Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 97-100.
 - Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). – 2009. – № 15 (1). – С. 18-21.
 - Швед М. І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. – 3(60). – С. 94-96.

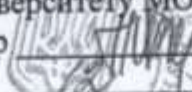
У патогенезі ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті відіграє роль пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередник його утворення – глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) зменшує кількість глюкози та глікозильованого гемоглобіну, проявляє гепато- та нефропротекторну активність (відновлює показники систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст біохімічних маркерів ураження цих органів у сироватці крові, відновлює їх гістоструктуру):
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Дніпропетровської державної медичної академії.
5. **Включено:** У лекційний курс і практичне заняття за темами "Патофізіологія ендокринної системи", "Порушення ендокринної функції підшлункової залози. Цукровий діабет".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи О. О. Чернухіної у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про патогенетичні механізми ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та роль системи оксиду азоту у розвитку даного патологічного процесу.
7. **Термін впровадження:** 2010-2011 навчальний рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Дніпропетровської державної медичної академії.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Завідувач кафедри патологічної фізіології,
професор, д-р мед. наук



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

В/о проректора з науково-педагогічної роботи
Буковинського державного медичного
університету МОЗ України

Професор  Ю. Т. Ахтемійчук
“ 23 / 10 / 2010 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив стимуляторів та блокаторів синтезу оксиду азоту на патогенез ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ВДНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського", кафедра внутрішньої медицини № 1. Аспірант – О. О. Чернухіна.
3. **Джерела інформації:**
 - Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 97-100.
 - Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). – 2009. – № 15 (1). – С. 18-21.
 - Швед М. І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. – 3(60). – С. 94-96.

У патогенезі ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті відіграє роль пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередник його утворення – глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) зменшує кількість глюкози та глікозильованого гемоглобіну, проявляє гепато- та нефропротекторну активність (відновлює показники систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст біохімічних маркерів ураження цих органів у сироватці крові, відновлює їх гістоструктуру).
4. **Впроваджено:** на кафедрі патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету.
5. **Включено:** У лекційний курс і практичне заняття за темами "Патофізіологія ендокринної системи", "Порушення ендокринної функції підшлункової залози. Цукровий діабет".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи О. О. Чернухіної у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про патогенетичні механізми ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та роль системи оксиду азоту у розвитку даного патологічного процесу.
7. **Термін впровадження:** 2010-2011 навчальний рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Завідувач кафедри патологічної фізіології,
доктор медичних наук, професор .



Ю. С. Роговий

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з навчальної роботи
ДЗ «Луганський державний медичний університет»

В. В. Сімонок
“15” *серпня* 2010 р.
проф. В. В. Сімонок



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив стимуляторів та блокаторів синтезу оксиду азоту на патогенез ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ВДНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського", кафедра внутрішньої медицини № 1. Аспірант – О. О. Чернухіна.
3. **Джерела інформації:**
 - Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 97-100.
 - Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). – 2009. – № 15 (1). – С. 18-21.
 - Швед М. І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. – 3(60). – С. 94-96.

У патогенезі ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті відіграє роль пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередник його утворення – глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) зменшує кількість глюкози та глікозильованого гемоглобіну, проявляє гепато- та нефропротекторну активність (відновлює показники систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст біохімічних маркерів ураження цих органів у сироватці крові, відновлює їх гістоструктуру).
4. **Впроваджено:** на кафедрі патологічної фізіології ДЗ «Луганський державний медичний університет».
5. **Включено:** У лекційний курс і практичне заняття за темами "Патофізіологія ендокринної системи", "Порушення ендокринної функції підшлункової залози. Цукровий діабет".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи О. О. Чернухіної у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про патогенетичні механізми ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та роль системи оксиду азоту у розвитку даного патологічного процесу.
7. **Термін впровадження:** 2010-2011 навчальний рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології ДЗ «Луганський державний медичний університет»
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Завідувач кафедри патологічної фізіології,
Заслужений діяч науки і техніки України,
доктор медичних наук, професор

МЗ

Н. К. Казімірко

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Проректор з навчальної роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пироговапроф. Ю.Й. Гумінський
2010 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив стимуляторів та блокаторів синтезу оксиду азоту на патогенез ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ВДНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського", кафедра внутрішньої медицини № 1. Аспірант – О. О. Чернухіна.
3. **Джерела інформації:**
 - Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 97-100.
 - Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). – 2009. – № 15 (1). – С. 18-21.
 - Швед М. І. Вплив глутаргіну та змінюванідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. – 3(60). – С. 94-96.

У патогенезі ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті відіграє роль пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередник його утворення – глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) зменшує кількість глюкози та глікозильованого гемоглобіну, проявляє гепато- та нефропротекторну активність (відновлює показники систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст біохімічних маркерів ураження цих органів у сироватці крові, відновлює їх гістоструктуру).
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.
5. **Включено:** У лекційний курс і практичне заняття за темами "Патофізіологія ендокринної системи", "Порушення ендокринної функції підшлункової залози. Цукровий діабет".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи О. О. Чернухіної у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про патогенетичні механізми ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та роль системи оксиду азоту у розвитку даного патологічного процесу.
7. **Термін впровадження:** 2010-2011 навчальний рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Зав. кафедри патологічної фізіології,
канд. мед. наук, доцент

Н. А. Рикало

"ЗАТВЕРДЖУЮ"
РЕКТОР

Запорізького державного медичного університету,
доктор медичних наук, професор,
Заслужений діяч науки і техніки України
Ю. М. КОЛЕСНИК

" 8 " _____

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб корекції ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті за допомогою глутаргіну.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ВДНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського", кафедра внутрішньої медицини № 1. Аспірант – О. О. Чернухіна.
3. **Джерела інформації:**
 - Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 97-100.
 - Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів оксиду азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). – 2009. – № 15 (1). – С. 18-21.
 - Швед М. І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. – 3(60). – С. 94-96.

У патогенезі ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті відіграє роль пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередник його утворення – глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) зменшує кількість глюкози та глікозильованого гемоглобіну, проявляє гепато- та нефропротекторну активність (відновлює показники систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст біохімічних маркерів ураження цих органів у сироватці крові, відновлює їх гістоструктуру).
4. **Впроваджено:** На кафедрі патофізіології Запорізького державного медичного університету.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичне заняття за темами "Патофізіологія ендокринної системи", "Порушення ендокринної функції підшлункової залози. Цукровий діабет".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи О. О. Чернухіної у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про патогенетичні механізми ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та роль системи оксиду азоту у розвитку даного патологічного процесу.
7. **Термін впровадження:** 2010-2011 навчальний рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патофізіології Запорізького державного медичного університету.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження
Професор кафедри патофізіології,
д.мед.н., проф.



А. В. Абрамов

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

В/о ректора Івано-Франківського національного
медичного університету

проф. Л.В. Глушко

"18" листопада 2010 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

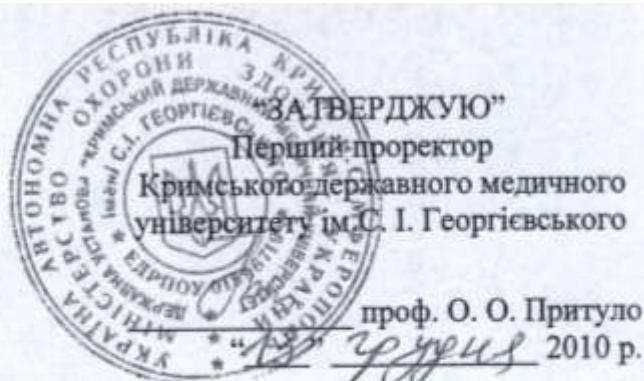
1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив стимуляторів та блокаторів синтезу оксиду азоту на патогенез ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ВДНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського", кафедра внутрішньої медицини № 1. Аспірант – О. О. Чернухіна.
3. **Джерела інформації:**
 - Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 97-100.
 - Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). – 2009. – № 15 (1). – С. 18-21.
 - Швед М. І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. – 3(60). – С. 94-96.

У патогенезі ураження печінки та нирок при стрептозотошиновому цукровому діабеті відіграє роль пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередник його утворення – глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) зменшує кількість глюкози та глікозильованого гемоглобіну, проявляє гепато- та нефропротекторну активність (відновлює показники систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст біохімічних маркерів ураження цих органів у сироватці крові, відновлює їх гістоструктуру).
4. **Впроваджено:** на кафедрі патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Включено:** У лекційний курс і практичне заняття за темами "Патофізіологія ендокринної системи", "Порушення ендокринної функції підшлункової залози. Цукровий діабет".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи О. О. Чернухіної у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про патогенетичні механізми ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та роль системи оксиду азоту у розвитку даного патологічного процесу.
7. **Термін впровадження:** 2010-2011 рр.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Завідувач кафедри патологічної фізіології
д-р мед. наук, професор



Л. М. Заяць



ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор
Кримського державного медичного
університету ім. С. І. Георгієвського

проф. О. О. Притуло

2010 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив стимуляторів та блокаторів синтезу оксиду азоту на патогенез ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ВДНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського", кафедра внутрішньої медицини № 1. Аспірант – О. О. Чернухіна.
3. **Джерела інформації:**
 - Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 97-100.
 - Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). – 2009. – № 15 (1). – С. 18-21.
 - Швед М. І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. – 3(60). – С. 94-96.

У патогенезі ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті відіграє роль пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередник його утворення – глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) зменшує кількість глюкози та глікозильованого гемоглобіну, проявляє гепато- та нефропротекторну активність (відновлює показники систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст біохімічних маркерів ураження цих органів у сироватці крові, відновлює їх гістоструктуру).
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Кримського державного медичного університету ім. С. І. Георгієвського.
5. **Включено:** У лекційний курс і практичне заняття за темами "Патофізіологія ендокринної системи", "Порушення ендокринної функції підшлункової залози. Цукровий діабет".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи О. О. Чернухіної у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про патогенетичні механізми ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та роль системи оксиду азоту у розвитку даного патологічного процесу.
7. **Термін впровадження:** 2010-2011 навчальний рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Кримського державного медичного університету ім. С. І. Георгієвського
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Завідувач кафедри патологічної фізіології,
доктор медичних наук, професор

А. В. Кубишкін



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор Тернопільського державного
медичного університету імені І.Я. Горбачевського

проф. І.Р. Мисула

Мисула 2010 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив стимуляторів та блокаторів синтезу оксиду азоту на патогенез ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ВДНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського", кафедра внутрішньої медицини № 1. Аспірант – О. О. Чернухіна.
3. **Джерела інформації:**
 - Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 97-100.
 - Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). – 2009. – № 15 (1). – С. 18-21.
 - Швед М. І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. – 3(60). – С. 94-96.

У патогенезі ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті відіграє роль пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередник його утворення – глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) зменшує кількість глюкози та глікозильованого гемоглобіну, проявляє гепато- та нефропротекторну активність (відновлює показники систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст біохімічних маркерів ураження цих органів у сироватці крові, відновлює їх гістоструктуру).
4. **Впроваджено:** на кафедрі патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського
5. **Включено:** У лекційний курс і практичне заняття за темами "Патофізіологія ендокринної системи", "Порушення ендокринної функції підшлункової залози. Цукровий діабет".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи О. О. Чернухіної у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про патогенетичні механізми ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та роль системи оксиду азоту у розвитку даного патологічного процесу.
7. **Термін впровадження:** 2010-2011 рр.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Завідувач кафедри патологічної фізіології
професор, д-р мед. н.

Хара

М. Р. Хара



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор Одеського національного
медичного університету, чл.-кор. НАМНУ

проф. В.Й.Кресюн

2010 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Вплив стимуляторів та блокаторів синтезу оксиду азоту на патогенез ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті».
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ВДНЗ "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського", кафедра внутрішньої медицини № 1. Аспірант – О. О. Чернухіна.
3. **Джерела інформації:**
 - Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 97-100.
 - Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). – 2009. – № 15 (1). – С. 18-21.
 - Швед М. І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. – 3(60). – С. 94-96.
4. **Впроваджено:** На кафедрі загальної і клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційному курсі та на практичних заняттях за темами "Патофізіологія ендокринної системи", "Порушення ендокринної функції підшлункової залози. Цукровий діабет".
6. **Ефективність впровадження:** Використання результатів роботи О. О. Чернухіної у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про патогенетичні механізми ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та роль системи оксиду азоту у розвитку даного патологічного процесу.
7. **Термін впровадження:** 2010-2011 навчальний рік.
8. **Зауваження і пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри загальної і клінічної
патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького
ОНМедУ, з. д. н. т. України,
д. мед. н., професор

А.І. Гоженко

"ЗАТВЕРДЖУЮ"



Перший проректор
ВДНЗ України «Українська медична
стоматологічна академія»

проф. В.М. Бобирьов

В.М. Бобирьов 2010 р.

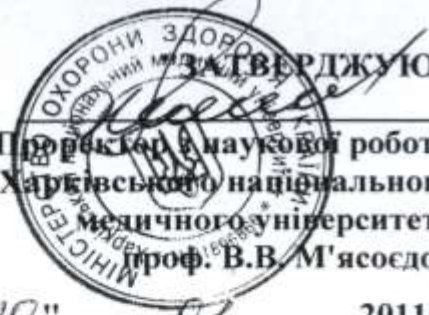
АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив стимуляторів та блокаторів синтезу оксиду азоту на патогенез ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ВДНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського", кафедра внутрішньої медицини № 1. Аспірант - О. О. Чернухіна.
3. **Джерела інформації:**
 - Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті /О.О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2008.-№ 2 (9).- С. 97-100.
 - Чернухіна О.О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів синтезу оксиду азоту / О.О. Чернухіна, К.А. Песохова, Т.В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). - 2009. - № 15(1).- С. 18-21.
 - Швед М.І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М.І. Швед, О.О.Чернухіна // Вісник наукових досліджень. - 2010. - 3(60). - С. 94-96.

У патогенезі ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті відіграє роль пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередник його утворення - глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) зменшує кількість глюкози та глікозильованого гемоглобіну, проявляє гепато- та нефропротекторну активність (відновлює показники систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст біохімічних маркерів ураження цих органів у сироватці крові, відновлює їх гістоструктуру).
4. **Гароване:** на кафедрі патологічної фізіології ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія».
5. **Включено:** У лекційний курс і практичне заняття за темами "Патофізіологія ендокринної системи", "Порушення ендокринної функції підшлункової залози. Цукровий діабет".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи О.О. Чернухіної у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів про патогенетичні механізми ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та роль системи оксиду азоту у розвитку даного патологічного процесу.
7. **Термін впровадження:** 2009-2010 навчальний рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія».
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Завідувач кафедри патологічної фізіології,
доктор медичних наук, професор

В. О. Костенко



 "20" _____ 07 _____ 2011р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** Вплив стимуляторів та блокаторів синтезу оксиду азоту на патогенез ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті.
2. **Ким і коли запропоновано:** Аспірант О.О. Чернухіна, кафедра внутрішньої медицини № 1, ВДНЗ МОЗ України «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачовського», 2010 р.
3. **Джерело інформації:**
 - Чернухіна О.О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О.О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. - № 2(9). – С. 97-100.
 - Чернухіна О.О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів оксиду азоту / О.О. Чернухіна, К.А. Посохова, Т.В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). – 2009. – № 15(1). – С. 18-21.
 - Швед М.І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М.І. Швед, О.О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. - № 3(60). – С. 94-96.

Встановлено, що в патогенезі ураження печінки та нирок при стрептозоточиновому цукровому діабеті відіграє роль пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередник його утворення – глутаргін (L-аргініну- L-глутамат) зменшує кількість глюкози та глікозильованого гемоглобіну, проявляє гепато- та нефропротекторну активність (відновлює показники систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст біохімічних маркерів ураження цих органів у сироватці крові, відновлює їх гістоструктуру).
4. **Де і коли введено:** кафедра патологічної фізіології, Харківський національний медичний університет МОЗ України, 2010-2011 р.р.
5. **Результати застосування методу за період з 2010 по 2011 р.р.:** вказані нові наукові дані враховано у науково-дослідній роботі кафедри, включно у лекційний курс і практичні заняття за темами: «Патофізіологія ендокринної системи», «Порушення вуглеводного обміну».
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Використання результатів роботи О.О. Чернухіної дозволило поглибити уявлення про патогенетичні механізми ураження внутрішніх органів при цукровому діабеті та роль системи оксиду азоту у розвитку даного захворювання.
7. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри патологічної фізіології
Харківського національного
медичного університету
д.мед.н., професор



 М.О. Клименко

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Заступник директора
з наукової роботиІнститут проблем ендокринної
патології ім. В.Я. Данилевського
АМН України"
проф. Н. О. КРАВЧУН

2010 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Спосіб корекції ураження печінки та нирок при експериментальному цукровому діабеті за допомогою глутаргіну.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ВДНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського", кафедра внутрішньої медицини № 1. Аспірант – О. О. Чернухіна.
3. **Джерела інформації:**
 - Чернухіна О. О. Роль системи оксиду азоту у патогенезі ураження нирок при цукровому діабеті / О. О. Чернухіна // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 97-100.
 - Чернухіна О. О. Морфологічні зміни у печінці при експериментальному діабеті та призначенні попередників та блокаторів оксиду азоту / О. О. Чернухіна, К. А. Посохова, Т. В. Дацко // Вісник морфології (Reports of morphology). – 2009. – № 15 (1). – С. 18-21.
 - Швед М. І. Вплив глутаргіну та аміногуанідину при їх окремому та поєднаному застосуванні на стан печінки при експериментальному цукровому діабеті / М. І. Швед, О. О. Чернухіна // Вісник наукових досліджень. – 2010. – 3(60). – С. 94-96.

У патогенезі ураження печінки та нирок при стрептозотоциновому цукровому діабеті відіграє роль пригнічення синтезу та біодоступності оксиду азоту, а попередник його утворення – глутаргін (L-аргініну-L-глутамат) зменшує кількість глюкози та глікозильованого гемоглобіну, проявляє гепато- та нефропротекторну активність (відновлює показники систем прооксиданти/антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, вміст біохімічних маркерів ураження цих органів у сироватці крові, відновлює їх гістоструктуру).
4. **Впроваджено:** Відділ експериментальної фармакології та токсикології ДУ "Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського АМН України".
5. **Включено:** У роботу профільної науково-дослідної лабораторії.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи О. О. Чернухіної у роботі профільної науково-дослідної лабораторії сприятиме пошуку нових способів ефективної фармакокорекції уражень внутрішніх органів, які розвиваються при цукровому діабеті.
7. **Термін впровадження:** 2010-2011 рр.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Відділ експериментальної фармакології та токсикології ДУ "Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського АМН України".
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Завідувачка відділом експериментальної
фармакології та токсикології,
доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник

Н. І. Горбенко