

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДВНЗ «ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ»

**ЧЕРНЯШОВА ВАЛЕНТИНА ВОЛОДИМИРІВНА**

УДК: 615.224/.355-035:[616.36+616.61]-02:616.381-002-092.9

**ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ  
L-АРГІНІНУ-L-ГЛУТАМАТУ ТА ПРЕПАРАТУ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ ДЛЯ  
КОРЕКЦІЇ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ТА НИРОК ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ  
ПЕРИТОНІТІ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Тернопіль – 2012

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у ДВНЗ „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор **Посохова Катерина Андріївна**,  
ДВНЗ „Тернопільський державний медичний університет  
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”,  
завідувач кафедри фармакології з клінічною фармакологією.

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор **Гудима Арсен Арсенович**, ДВНЗ „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”, завідувач кафедри екстреної медичної допомоги та медицини катастроф з курсом військової підготовки;

доктор медичних наук, доцент **Рикало Надія Анатоліївна**, Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри патологічної фізіології.

Захист дисертації відбудеться 21 вересня 2012 р. об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у ДВНЗ „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України” за адресою: 46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДВНЗ „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України” за адресою: 46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8.

Автореферат розісланий 20 серпня 2012 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01,

доктор біологічних наук, професор

І.М. Кліщ

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Гострий перитоніт посідає одне з провідних місць серед ургентної патології органів черевної порожнини. Його медичну і соціальну значимість засвідчують високі показники захворюваності (в Україні з приводу перитоніту щорічно лікують майже 30 тис. хворих) та значний рівень летальності, що становить 28 % і сягає 84 % при розвитку поліорганної недостатності (Р.Б. Мумладзе и др., 2008; В.О. Кавин та ін., 2009; І.Ю. Полянський, О.Г. Харабара, 2008; С.С. Селіванов та ін., 2010). Високий рівень ускладнень та смертності при гострому перитоніті обумовлений не тільки збільшенням кількості випадків печінкової недостатності, яка зустрічалась у 45 % хворих з гострим перитонітом, ускладнювала перебіг останнього і була причиною смерті у 28 % випадків (L.L. Plotkin, 2007), але й зростанням у цьому переліку частки ниркової недостатності, яка спостерігалась у 30-60 % випадків і була складовим компонентом синдрому поліорганної недостатності (Л.П. Саричев, 2000; Д.Н. Телепанов, В.Е. Милуков, 2009).

Незважаючи на достатню вивченість основних моментів патогенезу гострого перитоніту та його ускладнень, в останнє десятиліття зусилля дослідників спрямовані на з'ясування участі оксиду азоту у розвитку цієї патології (A. Davenport et al., 2004; J. Ni et al., 2005, 2010; M. Duranay et al., 2007; H.C. Lo et al., 2010). На сьогодні доволі переконливо доведено роль системи оксиду азоту у розвитку багатьох критичних станів (M.C. Reade, J.D. Young, 2003; R. Anaya-Prado et al., 2003; Y.C. Luiking et al., 2004; J. Ni et al., 2010). Проте, єдина точка зору щодо її місця в патогенезі ураження внутрішніх органів, зокрема печінки та нирок, при гострому перитоніті відсутня. Так, відомо, що один з механізмів негативного впливу оксиду азоту може реалізуватись через взаємодію останнього з супероксидним аніон-радикалом, що призводить до утворення високотоксичного пероксинітриду й визначає ступінь вираженості ендотоксикозу при даній патології (П.П. Голиков и др., 2000; Л.Б. Лазебник и др., 2005). Дана реакція починає переважати у випадку недостатньої активності супероксиддисмутази (Н.И. Гольдштейн, 2003; М.Н. Милякова, В.В. Шабанов, 2006). З іншого боку, доведено, що при гострому перитоніті відбувається порушення синтезу та біодоступності оксиду азоту, що пов'язане із дефіцитом субстрату для синтезу оксиду азоту – L-аргініну та потребує корекції за допомогою екзогенного введення цієї амінокислоти (H. Suh et al., 1997; Y.C. Luiking et al., 2004; Y.C. Luiking, N.E. Deutz, 2007; C.C. Hsiao, 2011).

Одним з попередників синтезу оксиду азоту є комплексна сполука L-аргініну-L-глутамат, яка володіє гіпоамоніємічним, гепато- і нефропротекторним, антиоксидантним, ангіпоксичним ефектами (І.В. Волчик, Л.М. Малоштан, 2004; Ю.В. Меркулова та ін., 2004; К.А. Посохова, О.В. Гриців, 2005; К.А. Посохова, Л.Й. Плосканич, 2005; А.І. Гоженко, М.В. Трусова, 2006; Л.Й. Плосканич, 2008), позитивно впливає на білковий, вуглеводний і жировий обміни, зменшує

некротичні явища, покращує енергозабезпечення гепатоцитів, проявляє мембранопротекторну та антиішемічну дію (О.Я. Бабак, 2003; К.А. Посохова та ін., 2004; О.М. Олешук, 2009; О.О. Шевчук, К.А. Посохова, 2010). Таким чином, важливим залишається з'ясування ролі системи L-аргінін – оксид азоту у патогенезі ураження печінки та нирок при гострому перитоніті. Одним з можливих підходів до вивчення даного питання є встановлення порівняльного впливу активаторів та блокувальників синтезу оксиду азоту на стан цих органів при гострому запальному процесі у черевній порожнині. Крім того, потребує доведення доцільності патогенетичної корекції ураження внутрішніх органів при гострому перитоніті за допомогою прекурсора оксиду азоту та супероксиддисмутази, в тому числі їх ефективності при комбінованому застосуванні.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дана робота є фрагментом теми комплексної науково-дослідної роботи кафедри фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України” на тему: “Пошук способів корекції уражень внутрішніх органів медикаментозного та іншого генезу” (№ державної реєстрації 0110U003642). Здобувач є співвиконавцем названої теми. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією МОЗ України та НАМН України “Нормальна і патологічна фізіологія” 01 березня 2012 року (протокол № 1).

**Мета дослідження.** З'ясувати особливості патогенезу ураження печінки та нирок при гострому експериментальному перитоніті та доцільність застосування попередника синтезу оксиду азоту – L-аргініну-L-глутамату і рекомбінантної супероксиддисмутази для корекції змін, що виникають.

**Завдання дослідження.**

1. Встановити зміни показників пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантного захисту, функціонального стану мітохондрій у печінці та нирках щурів, а також прозапальних (ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6) і протизапального (ІЛ-10) цитокінів та системи оксиду азоту при гострому перитоніті на різних стадіях його розвитку (12 год, 24 год, 48 год).

2. Дослідити вплив попередника синтезу оксиду азоту – L-аргініну-L-глутамату на процеси пероксидного окиснення ліпідів, активність антиоксидантної системи і системи мітохондріального електронного транспорту у печінці та нирках при гострому експериментальному перитоніті.

3. Встановити особливості впливу блокувальника індукції ізоформи синтази оксиду азоту аміногуанідину на стан печінки та нирок при гострому експериментальному перитоніті.

4. З'ясувати особливості впливу рекомбінантної супероксиддисмутази на патогенетичні ланки ураження печінки та нирок при гострому перитоніті.

5. Довести доцільність комбінованого використання L-аргініну-L-глутамату та рекомбінантної супероксиддисмутази як засобів корекції ураження печінки та нирок при гострому

експериментальному перитоніті.

6. Встановити особливості впливу L-аргініну-L-глутамату при його комбінованому застосуванні з блокатором індукцибельної синтази оксиду азоту аміногуанідином на стан печінки та нирок при гострому експериментальному перитоніті.

*Об'єкт дослідження.* Ураження печінки і нирок при гострому експериментальному перитоніті.

*Предмет дослідження.* Особливості впливу L-аргініну-L-глутамату, аміногуанідину та супероксиддисмутази при їх окремому та комбінованому застосуванні на патогенетичні ланки ураження печінки і нирок при гострому експериментальному перитоніті.

*Методи дослідження:* експериментальний – для моделювання гострого перитоніту; біохімічні – для вивчення стану прооксидантно-антиоксидантної системи та активності мітохондріальних ферментів у печінці та нирках, для оцінки рівня утворення оксиду азоту та продуктів ендогенної інтоксикації у сироватці крові при перитоніті та в процесі корекції попередниками і блокаторами синтезу оксиду азоту; імуноферментні – для оцінки цитокінового статусу; математичні – для статистичної обробки цифрових даних шляхом варіаційної статистики з використанням t критерію Стьюдента.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Отримано нові дані і поглиблено існуючі уявлення про патогенетичні механізми ушкодження внутрішніх органів при гострому перитоніті. Зокрема, встановлено роль системи L-аргінін – оксид азоту у патогенезі ураження печінки та нирок при перитоніті і з'ясовано механізми захисної дії L-аргініну-L-глутамату та рекомбінантної супероксиддисмутази (рексоду) при даній патології, які полягають у здатності стимулювати синтез оксиду азоту та проявляти антиоксидну активність. Вперше доведено позитивний вплив L-аргініну-L-глутамату і препарату супероксиддисмутази на стан печінки та нирок на тлі гострого експериментального перитоніту при їх роздільному і ще в більшій мірі при їх комбінованому застосуванні. Встановлено доцільність використання такої комбінації для корекції уражень печінки та нирок при цій патології.

Вперше встановлено, що селективний інгібітор індукцибельної синтази оксиду азоту – аміногуанідин сприяє поглибленню ушкодження печінки та нирок при гострому перитоніті, що проявляється прогресуванням процесів пероксидного окиснення ліпідів, зниженням активності антиоксидантної системи та ферментів мітохондрій, зростанням показників ендогенної інтоксикації, що відбувається на тлі зниження вмісту нітрит-аніону у сироватці крові та ушкоджених органах. Вперше доведено зниження впливу L-аргініну-L-глутамату на патогенетичні ланки ураження печінки і нирок при гострому перитоніті та при його поєднанні з аміногуанідином, що підтверджує важливу роль активації синтезу оксиду азоту у механізмах протекторної дії цього прекурсора синтезу оксиду азоту при даній патології.

**Практичне значення одержаних результатів.** Розширення уявлень про молекулярні механізми ушкодження печінки та нирок при гострому перитоніті, зокрема з'ясування ролі пригнічення синтезу оксиду азоту у патогенезі цього патологічного процесу, є основою для пошуку патогенетично обґрунтованих способів його корекції. Доведення ефективності окремого та поєданого застосування попередника синтезу оксиду азоту (L-аргініну-L-глутамату) та антиоксиданта – перехоплювача супероксидного аніон-радикалу (рекомбінантної супероксиддисмутази) за умов ураження печінки і нирок при гострому експериментальному перитоніті вказує на доцільність подальшого поглибленого вивчення даної комбінації та слугує підґрунтям для пошуку нових схем корекції поліорганної недостатності при гострому перитоніті.

Результати досліджень впроваджено у навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України", Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет", Буковинського державного медичного університету, ДЗ "Дніпропетровська медична академія МОЗ України", ДЗ "Луганський державний медичний університет", Запорізького державного медичного університету, Кримського державного медичного університету імені С.І. Георгієвського, Одеського національного медичного університету, ВДНЗУ "Українська медична стоматологічна академія".

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем проведено патентно-інформаційний пошук, опрацьовано наукову літературу, сплановано та виконано всі дослідження. Моделювання гострого перитоніту, біохімічні дослідження автор виконала самостійно. Експериментальні дослідження проводились на базі лабораторії доклінічних досліджень лікарських засобів ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України", акредитованої Державним фармакологічним центром МОЗ України (Посвідчення № 2 від 27.04.2006 р.) та атестованої МОЗ України (Атестат № 00474 від 16.12.2007 р.). Облік, статистична обробка, аналіз та узагальнення одержаних результатів, розробка основних положень та висновків роботи, написання і оформлення роботи виконані здобувачем. Разом із науковим керівником сформульовано мету і завдання наукових досліджень, обґрунтовано висновки. У наукових працях, опублікованих в співавторстві, використано фактичний матеріал, отриманий здобувачем 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, викладені у дисертації, оприлюднено на XI Ювілейному міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених (Тернопіль, 2007), Всеукраїнській науково-практичній конференції "Довкілля і здоров'я" (Тернопіль, 2009), XIII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2009), Всеукраїнській науково-практичній конференції "Сучасний стан та перспективи

розвитку доказової медицини у вітчизняній охороні здоров'я” (Тернопіль, 2009), 3-ій науково-практичній конференції “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів” (Тернопіль, 2009), науково-практичній конференції “Проблеми діагностики, профілактики та лікування екзогенних та ендогенних інтоксикацій” (Чернівці, 2009), XIV Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2010), Науково-практичній конференції “Безпечність ліків і фактори ризику небажаних ефектів фармакотерапії” (Тернопіль, 2010), VIII науково-практичній конференції з міжнародною участю студентів та молодих вчених “Науковий потенціал молоді – прогрес медицини майбутнього” (Ужгород, 2010), VI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології, присвяченої 90-річчю професора О.О. Столярчука “Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина” (Вінниця, 2010), XV Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2011), XXIX Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю (Харків, 2012).

**Публікації.** Результати досліджень, викладені у дисертації, опубліковано у 21 науковій праці, з яких 5 статей – у фахових наукових виданнях, 16 – у матеріалах і тезах наукових конференцій, конгресів.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена українською мовою на 170 сторінках машинописного тексту (з них – 121 сторінка залікового принтерного тексту) та складається зі вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел (всього 317 найменувань), додатків. Робота проілюстрована 24 таблицями та 19 рисунками.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали і методи дослідження.** Дослідження проведено на 234 нелінійних білих щурах-самцях з масою тіла 140-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Робота із піддослідними тваринами виконувалась згідно з правилами Європейської конвенції про гуманне відношення до лабораторних тварин (Страсбург, 1985), “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та вимог комісії з біоетики ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України” (протокол № 6 від 17.06.2011 р.).

У процесі роботи піддослідних тварин розділили на VI серій. Тварини в межах однієї серії були поділені на такі групи: 1 – тварини, яким моделювали гострий перитоніт (ГП) – 12 годин; 2 – щури, яким моделювали ГП – 24 години; 3 – тварини, яким моделювали ГП – 48 годин (табл. 1).

## Розподіл піддослідних тварин на серії, групи і підгрупи при ГП та його корекції

№ серії	Термін дослідження (години)	Підгрупа і кількість тварин	Кількість тварин	Кратність введення препаратів (рази)
I	12	Контроль (інтактні тварини)	6	–
		Гострий перитоніт	6	–
		Гострий перитоніт + LALG	6	1
	24	Контроль (інтактні тварини)	6	–
		Гострий перитоніт	8	–
		Гострий перитоніт + LALG	8	2
	48	Контроль (інтактні тварини)	6	–
		Гострий перитоніт	8	–
		Гострий перитоніт + LALG	8	4
II	48	Контроль (інтактні тварини)	6	–
		Гострий перитоніт	8	–
		Гострий перитоніт + AG	8	4
III	48	Контроль (інтактні тварини)	6	–
		Гострий перитоніт	16	–
		Гострий перитоніт + LALG	8	4
		Гострий перитоніт + SODrec	8	4
		Гострий перитоніт + LALG + SODrec	16	4
IV	12	Гострий перитоніт	6	–
		Гострий перитоніт + SODrec	6	1
	24	Гострий перитоніт	6	–
		Гострий перитоніт + LALG	6	2
	48	Контроль (інтактні тварини)	6	–
		Гострий перитоніт + LALG	8	4
V	48	Гострий перитоніт	6	–
		Гострий перитоніт + LALG + AG	6	4
VI	48	Контроль (інтактні тварини)	6	–
		Гострий перитоніт	8	–
		Гострий перитоніт + LALG	8	4



		Гострий перитоніт + SODrec	8	4
		Гострий перитоніт + LALG + SODrec	8	4

Контрольними групами були інтактні тварини. ГП моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення 5 % калової суміші (K. J. Alden et al., 1998). Для експериментальної корекції змін при ГП було застосовано: попередник синтезу оксиду азоту (NO) – L-аргініну-L-глутамат (LALG) (Глутаргін, фармацевтична компанія “Здоров’я”, м. Харків), по 45 мг/кг маси тіла тварини (Ю. В. Меркулова, Л. А. Чайка, 1998), селективний блокатор індукбельної синтази оксиду азоту – аміногуанідин (AG) (ООО “Химлабораторреактив”, м. Київ) по 10 мг/кг (M. Isobe et al., 1999), препарат супероксиддисмутази – рексод (SODrec) (ВТ “РЭСБИО”, м. Санкт-Петербург, РФ) по 0,05 мг/кг (Л. В. Деримедвідь, 2006). Речовини (LALG, SODrec) вводили внутрішньоочеревинно одноразово (за 30 хв до калової ін’єкції і виводили тварин з досліду через 12 год), дворазово (за 30 хв до і через 12 год після моделювання ГП і виводили щурів з експерименту через 24 год), чотириразово (за 30 хв до і через 12, 24 та 36 год після моделювання ГП і виводили щурів з досліду через 48 год). AG, комбінації LALG і SODrec та LALG і AG вводили внутрішньоочеревинно, чотириразово (за 30 хв до і через 12, 24 та 36 год після моделювання ГП і виводили щурів з експерименту через 48 год).

Біохімічні показники у сироватці крові, гомогенатах печінки та нирок досліджували у контрольній та дослідних групах тварин через 12, 24 і 48 год після моделювання ГП.

В процесі виконання дисертаційної роботи вивчали стан прооксидантно-антиоксидантної системи та активність мітохондріальних ферментів, рівень синтезу NO за вмістом його стабільного метаболіту, рівень сечовини, вміст молекул середньої маси і еритроцитарний синтез інтоксикації, концентрацію ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-10 і ФНП- $\alpha$ . Активність процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) досліджували у тканині печінки і нирок. Процеси вільнорадикального окиснення оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів (Л.И. Андреева и др., 1988) та гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) (В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкорудная, 1983). Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД) (С. Чевари и др., 1985) і каталази (КТ) (М.А. Королук и др., 1988), кількістю відновленого глутатіону (ВГ) (G.L. Ellman, 1959). Про стан енергозабезпечувальних процесів мітохондрій робили висновок за активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ) (Н.Д. Ещенко, Г.Г. Вольский, 1982) та цитохромоксидази (ЦХО) (Р.С. Кривченкова, 1977). Вміст NO $_2^-$ , стабільного метаболіту оксиду азоту визначали у сироватці крові та гомогенатах печінки і нирок за методом L.C. Green et al. (1982), рівень сечовини визначали у сироватці крові, використовуючи стандартний набір реактивів (ООО НПП “Филисит диагностика”, Україна). Ступінь ендогенної інтоксикації оцінювали за вмістом у сироватці крові молекул середньої маси (МСМ) (В.В. Оська та ін., 1987), еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІ) (Ю.П. Спіженко та ін., 1993); визначали у сироватці крові концентрацію ІЛ-1 $\beta$ ,

використовуючи тест-систему ІФА (ЗАТ “Вектор-Бест”, Росія), ІЛ-6 методом твердофазного імуоферментного аналізу, використовуючи тест-систему ІФА (ТОВ “Укрмед Дон”, Україна), ІЛ-10 (тест-система ІФА, ЗАТ “Вектор-Бест”, Росія) і ФНП-а, використовуючи тест-систему ІФА (ТОВ “Укрмедсервіс”, Україна).

Отриманий цифровий матеріал піддавали статистичній обробці з використанням значень середнього арифметичного (M), похибки середнього арифметичного (m), критерію Стюдента (t). Зміни вважали достовірними при  $p \leq 0,05$ . Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel XP.

**Результати досліджень та їх обговорення.** У результаті проведених досліджень встановлено, що у щурів із ГП, порівняно із контрольною групою, відбувалось зростання вмісту маркерів ендогенної інтоксикації у сироватці крові: МСМ<sub>1</sub> та МСМ<sub>2</sub> через 12 год – на 39 і 32 %, 24 год – на 63 і 56 %, 48 год – на 80 і 72 % відповідно, причому найбільш виражені зміни спостерігалися через 48 год після моделювання патології (табл. 2).

Таблиця 2

**Вміст молекул середньої маси та рівень нітрит-аніону у сироватці крові щурів при гострому експериментальному перитоніті (M±m)**

Показник	Гострий перитоніт			
	Контроль, n=6	12 год, n=6	24 год, n=6	48 год, n=8
МСМ <sub>1</sub> , ум.од.	0,54±0,01	0,75±0,04 <sup>***</sup>	0,88±0,02 <sup>***</sup>	0,97±0,02 <sup>***</sup>
МСМ <sub>2</sub> , ум.од.	0,29±0,01	0,39±0,02 <sup>**</sup>	0,46±0,03 <sup>***</sup>	0,51±0,02 <sup>***</sup>
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мкмоль/л	2,13±0,07	1,70±0,06 <sup>***</sup>	1,30±0,06 <sup>***</sup>	1,18±0,04 <sup>***</sup>

Примітка. \* – вірогідність відмінностей показників стосовно контролю (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).

Відомо, що важкість ендогенної інтоксикації корелює з рівнем МСМ (В.А. Кузнецов и др., 1993), а зростання останніх є показником прогресування перитоніту та прогностичним критерієм розвитку гнійних ускладнень (Л.Л. Громашевська, 2006). Також при ГП у сироватці крові (через 48 год) зростав ЕП – на 73 %, порівняно з контролем, що підтверджує накопичення токсичних продуктів (В.В. Бенедикт, 2005; В.О. Кавин та ін., 2009).

При ГП, порівняно із контрольною групою, відмічено зниження вмісту NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у сироватці крові – на 20 % ( $p < 0,001$ ), 39 % ( $p < 0,001$ ) і 45 % ( $p < 0,001$ ) відповідно до термінів дослідження (див. табл. 2), що опосередковано свідчить про порушення синтезу NO, ймовірно, внаслідок зниження біодоступності субстрату для його синтезу – L-аргініну (Н. Suh et al., 1997; J.R. Parratt, 1998; Y.C. Luiking et al., 2004; Y.C. Luiking, N.E. Deutz, 2007; C.C. Hsiao et al., 2011).

Спостерігалось також зростання вмісту сечовини на 20, 38 і 39 % ( $p<0,001$ ) відповідно до термінів дослідження.

У тварин з ГП через 48 год, порівняно із контрольною групою, у сироватці крові спостерігалось підвищення рівня прозапальних цитокінів – ФНП- $\alpha$  у 29 разів і ІЛ-1 $\beta$  у 2,3 раза, ІЛ-6 у 8,0 разів, що відображало високу активність запального процесу. Рівень протизапального цитокіну ІЛ-10, навпаки, знижувався на 15 % ( $p<0,01$ ) (табл. 3). Надмірна і неконтрольована продукція запальних цитокінів вважається однією із причин розвитку поліорганної недостатності у тварин із ГП (Ф.В. Гринчук, 2007; К.А. Гольцев и др., 2011).

У дослідах зареєстровано зростання, порівняно із контрольною групою, вмісту ГПЛ та ТБК у гомогенатах печінки через 12 год – на 36 і 44 % ( $p<0,001$ ), 24 год – на 69 і 68 % ( $p<0,001$ ), 48 год – на 79 ( $p<0,001$ ) і 90 % ( $p<0,001$ ), у гомогенатах нирок – відповідно на 31 і 41 % (12 год), 57 і 63 % (24 год), 73 і 83 % (48 год) – ( $p<0,001$ ), що свідчить про активацію вільнорадикального окиснення ліпідів і є важливим патогенетичним механізмом пошкодження внутрішніх органів при ГП (С.П. Бродовський, 2007; Ф.В. Гринчук, 2007; М. Demir et al., 2007).

При цьому у печінці та нирках тварин, порівняно із контрольною групою, відбувалось зменшення активності та вмісту компонентів антиоксидантної системи (АОС). Так, активність СОД знизилась у печінці через 12 год – на 45 %, 24 год – на 57 %, 48 год – на 65 % ( $p<0,001$ ); КТ – відповідно на на 20, 26 і 46 % ( $p<0,001$ ). У нирках спостерігались аналогічні зміни: зменшення активності СОД відповідно на 41, 54 і 56 % ( $p<0,001$ ), КТ – на 17 % ( $p<0,01$ ), 21 і 36 % ( $p<0,001$ ). Поряд з цим, встановлено зменшення вмісту ВГ у печінці на відповідно на 32, 37 і 48 % ( $p<0,001$ ), та у нирках – на 24, 33 та 44 % ( $p<0,001$ ).

Таблиця 3

**Вплив поєданого застосування L-аргініну-L-глутамату та препарату рекомбінантної супероксиддисмутази на вміст цитокінів у сироватці крові через 48 год після моделювання гострого перитоніту ( $M\pm m$ )**

Показник	Контроль (інтактні), n=6	Гострий перитоніт, n=6	Гострий перитоніт + LALG, n=6	Гострий перитоніт + SODrec, n=6	Гострий перитоніт +LALG+ SODrec, n=6
ФНП- $\alpha$ , пг/мл	8,38 $\pm$ 0,22	241,87 $\pm$ 2,33***	204,27 $\pm$ 6,85***###	187,03 $\pm$ 1,40***### $p_1<0,05$	177,47 $\pm$ 1,82***### $p_1<0,01$ ; $p_2<0,01$
ІЛ-1 $\beta$ , пг/мл	6,40 $\pm$ 0,16	14,67 $\pm$ 1,45***	10,95 $\pm$ 0,38***#	8,82 $\pm$ 0,63***# $p_1<0,05$	6,98 $\pm$ 0,33### $p_1<0,001$ ; $p_2<0,05$
ІЛ-6, пг/мл	9,78 $\pm$ 0,85	78,17 $\pm$ 1,62***	56,25 $\pm$ 4,11***###	42,68 $\pm$ 2,62***### $p_1<0,05$	35,15 $\pm$ 1,33***### $p_1<0,001$ ; $p_2<0,05$

IL-10, пг/мл	10,75±0,40	9,13± 0,28**	11,90± 0,89 <sup>#</sup>	14,43±0,42 <sup>***###</sup> p <sub>1</sub> <0,05	15,97±0,41 <sup>***###</sup> p <sub>1</sub> <0,01; p <sub>2</sub> <0,05
-----------------	------------	-----------------	-----------------------------	--	--

Примітки:

- \* – вірогідність відмінностей стосовно контрольної групи (\* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001).
- # – вірогідність відмінностей стосовно групи з гострим перитонітом (# – p<0,05; ## – p<0,01; ### – p<0,001).
- p<sub>1</sub> – достовірність відмінностей стосовно групи, в якій застосовували L-аргініну-L-глутамат.
- p<sub>2</sub> – достовірність відмінностей стосовно групи, в якій застосовували препарат рекомбінантної супероксиддисмутази.

Зазначені зміни відбувались на тлі зниження вмісту NO<sub>2</sub><sup>-</sup>: у гомогенатах печінки – на 25, 43 і та 47 % (p<0,001), у гомогенатах нирок – на 18 % (p<0,01), 34 та 41 % (p<0,001) відповідно до термінів дослідження.

Про деструктивні процеси на рівні мітохондріальних мембран свідчило зниження активності ферментів цих органел. Так, у печінці через 12, 24 і 48 год експерименту активність СДГ зменшувалась, порівняно із контрольною групою, відповідно на 18, 31, 51 % (p<0,001), активність ЦХО – на 15, 27, 35 % (p<0,001). У нирках активність СДГ знижувалась відповідно на 14, 29, 38 % (p<0,001), ЦХО – на 12 % (p<0,05), 23 % (p<0,01) і 27 % (p<0,001). Відомо, що саме мітохондріальна дисфункція сприяє порушенню енергозалежних процесів в клітині, активізації вільнорадикальних реакцій та ініціації механізмів програмованої клітинної загибелі, що супроводжується розвитком мультиорганної недостатності при ГП (М.П. Судаков та ін., 2007; M. Singer, 2007; J. F. Carre, M. Singer, 2008).

При застосуванні LALG вміст MCM<sub>1</sub> і MCM<sub>2</sub> у сироватці крові, порівняно з некорегованими тваринами, був через 12 год, меншим на 35 і 37 % (p<0,001), через 24 год – на 25 і 22 % (p<0,001), через 48 год – на 49 і 55 % (p<0,001). Зростання рівня сечовини у сироватці крові на 16, 20, 29 % (p < 0,001) відповідно до термінів дослідження у тварин з ГП при введенні LALG, на нашу думку, демонструє гіпоамоніємічну дію останнього, механізм якої полягає в активації зв'язування аміаку в орнітиновому циклі уреогенезу (Л.М. Смердова, 2002; О.Я. Бабак, 2003; К.А. Посохова, О.В. Гриців, 2005; В.І. Матяш, 2007).

Під впливом LALG відбувалось зменшення рівня ЕП у сироватці крові експериментальних тварин на 15 % (p<0,001), порівняно з тваринами із ГП. Встановлено також, що на тлі застосування LALG у тварин з ГП статистично достовірно знижувався рівень у сироватці крові прозапальних цитокінів – ФНП-α на 16 % , IL-1β на 25 % і IL-6 на 28 % та зростання рівня протизапального цитокіну– IL-10 на 30 % (p<0,05) (див. табл. 3). Отже, LALG згладжує дисбаланс

у системі цитокінів, що пояснює зменшення ступеня виразності запальних проявів і дозволяє стверджувати про наявність у застосованого препарату корекції імуномодельючих властивостей.

Під впливом попередника синтезу NO LALG рівень  $\text{NO}_2^-$  через 48 год після моделювання ГП підвищувався на 125 % у сироватці крові та на 122 % у гомогенатах нирок (табл. 4). Також під впливом цього препарату стосовно некорегованих тварин, вміст  $\text{NO}_2^-$  в печінці збільшувався на 60, 86 і 130 % – ( $p < 0,001$ ) відповідно до трьох термінів розвитку перитоніту.

Таблиця 4

**Зміни показників ПОЛ та рівня  $\text{NO}_2^-$  у печінці та нирках через 48 год після моделювання гострого перитоніту та застосування L-аргініну-L-глутамату та його комбінації з рекомбінантною супероксиддисмутазою ( $M \pm m$ )**

Показник	Орган	Контроль, n=6	Гострий перитоніт, n=8	Гострий перитоніт + LALG, n=8	Гострий перитоніт + LALG+SODrec, n=8
ТБП, ммоль/кг	П	4,23±0,06	7,97±0,10 <sup>***</sup>	5,32±0,08 <sup>***###</sup>	4,42±0,04 <sup>###</sup> p<0,001
	Н	3,97±0,09	6,99±0,09 <sup>***</sup>	4,82±0,04 <sup>***###</sup>	4,34±0,05 <sup>***###</sup> p<0,001
СОД, ум.од./кг	П	2,63±0,08	0,99±0,04 <sup>***</sup>	1,94±0,05 <sup>***###</sup>	2,17±0,07 <sup>***###</sup> p<0,05
	Н	2,58±0,11	1,05±0,04 <sup>***</sup>	2,01±0,04 <sup>***###</sup>	2,23±0,05 <sup>###</sup> p<0,01
КТ, кат/кг	П	7,13±0,11	4,39±0,22 <sup>***</sup>	7,42±0,11 <sup>###</sup>	7,96±0,08 <sup>***###</sup> p<0,01
	Н	6,93±0,09	4,48±0,09 <sup>***</sup>	7,22±0,04 <sup>###</sup>	7,98±0,11 <sup>***###</sup> p<0,001
ВГ, ммоль/кг	П	4,76±0,15	2,61±0,07 <sup>***</sup>	3,97±0,09 <sup>***###</sup>	4,37±0,03 <sup>###</sup> p<0,01
	Н	4,53±0,11	2,67±0,10 <sup>***</sup>	3,89±0,06 <sup>***###</sup>	4,17±0,03 <sup>***###</sup> p<0,01
$\text{NO}_2^-$ , мкмоль/кг	П	1,86±0,08	0,92±0,04 <sup>***</sup>	2,09±0,03 <sup>###</sup>	2,22±0,04 <sup>***###</sup> p<0,05
	Н	1,69±0,08	0,95±0,04 <sup>***</sup>	2,12±0,04 <sup>***###</sup>	2,28±0,03 <sup>***###</sup> p<0,01

Примітки:

1. \* – вірогідність відмінностей стосовно контрольної групи (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ).
2. # – вірогідність відмінностей стосовно групи з гострим перитонітом (# –  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,01$ ; ### –  $p < 0,001$ ).
3. p – достовірність відмінностей стосовно групи, в якій застосовували L-аргініну-L-глутамат.

Зростання рівня стабільного метаболіту NO у цих серіях може бути пов'язане із відновленням його синтезу за рахунок постачання NO-синтази субстратом (О.М. Олещук, 2007; Л.Й. Плосканич, 2008).

Одночасно у печінці спостерігалось зменшення вмісту ГПЛ через 12, 24 і 48 год на 17, 27 і 38 % ( $p < 0,001$ ) та вмісту ТБП: на 18 % – через 12 год, на 26 % – через 24 год, на 37 % – через 48 год ( $p < 0,001$ ), порівняно з тваринами із ГП без корекції. Зниження вмісту ГПЛ та ТБП в цих експериментальних умовах відмічено й у нирках: через 48 год – на 34 і 31 % ( $p < 0,001$ ), порівняно із групою не корегованої патології (див. табл. 4), що пов'язують із дією LALG знижувати інтенсивність процесів ПОЛ, завдяки своїй здатності стимулювати синтез NO, вступати в реакцію із супероксидним аніон-радикалом і слугувати пасткою для синглетного кисню і гідроксильного радикалу (Ю.В. Меркулова та ін., 2004; В.І. Матяш, А.М. Печінка, Л.В. Мінова, 2007), та відновлювати активність АОС. Про це свідчить зростання стосовно некорегованих тварин активності СОД і КТ у печінці (через 12 год – на 48 ( $p < 0,05$ ) та 45 % ( $p < 0,001$ ), 24 год – на 81 ( $p < 0,01$ ) та 57 % ( $p < 0,001$ ), 48 год – на 102 та 76 % ( $p < 0,001$ ) та зростання вмісту ВГ (на 29 %, 36 % та 55 % – ( $p < 0,001$ ) відповідно до термінів розвитку ГП). У нирковій тканині активність СОД та КТ збільшувалась на 91 і 61 %, вміст ВГ на 46 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з відповідними показниками у тварин із ГП без корекції (див. табл. 4).

Зростання активності мітохондріальних ферментів під впливом LALG свідчило про відновлення у гепато- та нефроцитах процесів синтезу макроергічних сполук. Так, активність СДГ та ЦХО у тварин, яким вводили LALG, зростала відповідно до стадії розвитку патологічного процесу: у печінці на 31 і 30 % (12 год), на 107 і 91 % (24 год), на 130 і 129 % (48 год) –  $p < 0,001$  та у гомогенатах нирок на 114 і 116 % (48 год,  $p < 0,001$ ), порівняно з групою тварин із ГП, що вказує, на нашу думку, на спроможність препарату зв'язувати токсичні речовини, зменшувати прояви оксидативного стресу, відновлювати цілісність клітинних та субклітинних мембран, покращувати енергозабезпечення і функціонування ферментних систем.

Наступним етапом дослідження було вивчення впливу селективного інгібітора індукцйбельної ізоформи NO-синтази – AG на стан печінки та нирок при ГП. Застосування AG приводило до зростання вмісту у сироватці крові МСМ<sub>1</sub> і МСМ<sub>2</sub> – на 15 ( $p < 0,001$ ) і 12 % ( $p < 0,01$ ) та сечовини – на 36 % ( $p < 0,001$ ) на 48-й год експерименту, порівняно з групою не корегованої патології. В цей термін спостереження також спостерігалось збільшення концентрації ФНП- $\alpha$  на 4 % та ІЛ-6 на

11 % ( $p < 0,001$ ) порівняно із показниками тварин з ГП.

Вміст  $\text{NO}_2^-$  під впливом досліджуваного препарату (у 3-ій термін дослідження) ставав нижчим на 30 % ( $p < 0,001$ ) у сироватці крові, на 31 % ( $p < 0,001$ ) – у печінці і на 27 % ( $p < 0,001$ ) – у нирках, порівняно з тваринами з ГП, що, ймовірно, пов'язано із порушенням процесів синтезу NO.

Ступінь активації процесів ПОЛ у цій серії дослідів був вищим порівняно з тваринами з ГП. Так, вміст ГПЛ та ТБК зростав у печінці на 18 і 14 %, у гомогенатах нирок – на 16 і 11 % порівняно із показниками групи тварин з ГП. Одночасно встановлено зниження активності СОД у гомогенатах печінки та нирок – на 24 і 19 %, КТ – на 28 і 22 %, пулу ВГ – на 23 і 18 %, порівняно з не корегованим ГП, що можна пов'язати із дією препарату блокувати індукцибельну NOS, яка має стосунок до продукції оксиду азоту і здатністю викликати розлади в прооксидантно-антиоксидантній системі. На тлі застосування AG при ГП відбувалось зниження активності СДГ та ЦХО – на 25 ( $p < 0,001$ ) і 22 % ( $p < 0,001$ ) (печінка) та на 18 ( $p < 0,001$ ) і 15 % ( $p < 0,01$ ) (нирки), порівняно з тваринами із не корегованим ГП (через 48 год).

У групі тварин, яким з метою корекції вводили препарат SODrec, спостерігалось зниження вмісту у сироватці крові  $\text{MCM}_1$  і  $\text{MCM}_2$  на 22 і 16 % (через 12 год), на 36 і 30 % (через 24 год), на 41 і 34 % (через 48 год,  $p < 0,001$ ). Одночасно через 48 год зменшувався ЕП на 26 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з тваринами із перитонітом без корекції.

У цій серії дослідів на 48-й год експерименту встановлено зниження рівнів ФНП- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  та IL-6 – на 23 ( $p < 0,001$ ), 40 ( $p < 0,01$ ) та 45 % ( $p < 0,001$ ) відповідно (див. табл. 3). Рівень IL-10, навпаки, зріс на 58 % ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 3). Зазначені зміни супроводжувались зменшенням рівня  $\text{NO}_2^-$  у сироватці крові на 11, 14, 14 % ( $p < 0,01$ ); у печінці на 12 ( $p < 0,05$ ), 15 ( $p < 0,01$ ), 17 % ( $p < 0,05$ ), у нирках на 8, 11 і 13 % ( $p < 0,05$ ) відповідно до термінів експерименту. На цьому тлі спостерігалось пригнічення активності процесів ПОЛ. Так, вміст ТБП у печінці знижувався відповідно на 21, 30 і 35 % ( $p < 0,001$ ), у нирках – на 15, 26 і 33 % ( $p < 0,001$ ). Одночасно зростала активність СОД – на 53, 96 і 110 % ( $p < 0,001$ ) (у печінці) та 51, 88 і 97 % ( $p < 0,001$ ) (у нирках) і активність КТ – на 22, 30, 73 % ( $p < 0,001$ ) (у печінці) та 16, 23, і 70 % ( $p < 0,001$ ) (у нирках) відповідно до термінів перитоніту. Спостерігались збільшення вмісту ВГ у печінці та нирках на 35, 41, 56 % та на 26, 35, 51 %, зростання активності СДГ – на 16, 38, 64 % (у печінці) і на 11, 35, 47 % (у нирках); активності ЦХО – на 11, 33, 43 % (у печінці) і на 8, 20, 22 % (у нирках) через 12, 24 і 48 год експерименту.

Наступним етапом досліджень було з'ясування особливостей впливу на стан внутрішніх органів LALG і SODrec при їх комбінованому застосуванні при ГП. Встановлено, що у цій серії відбувалось зниження у сироватці крові, у порівнянні з тваринами з ГП (48 год), кількості  $\text{MCM}_1$  і  $\text{MCM}_2$  на 52 і 65 % ( $p < 0,001$ ), ЕП – на 34 % ( $p < 0,001$ ), рівня ФНП- $\alpha$  на 27 % ( $p < 0,001$ ), IL-1 $\beta$  на 52 % ( $p < 0,001$ ) і IL-6 на 55 % ( $p < 0,001$ ) та зростання рівня – IL-10 на 75 % ( $p < 0,001$ ) (див. табл. 3).

Відмічено зменшення рівня  $MCM_1$  і  $MCM_2$  у сироватці крові при комбінованому застосуванні LALG і SODrec, що було на 23 і 48 % нижче, ніж при монопризначенні LALG. ЕП у цій серії дослідів був на 23 % ( $p < 0,001$ ) меншим, порівняно із показниками у групі тварин з ГП, які окремо отримували LALG. Рівень ФНП- $\alpha$  був на 13 % ( $p < 0,01$ ), IL-1 $\beta$  на 36 % ( $p < 0,001$ ) і IL-6 на 38 % ( $p < 0,001$ ) нижчим, а IL-10 на 34 % ( $p < 0,01$ ) вищим, порівняно із відповідними показниками тварин з ГП, яким вводили лише LALG (див. табл. 3). Одночасно у сироватці крові зростав рівень  $NO_2^-$  на 137 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з ГП.

Через 48 год експерименту комбінування LALG і SODrec супроводжувалось зменшенням у печінці: рівнів ГПЛ (на 48 %) і ТБП (на 45 %), зростанням активності СОД (на 119 %) та КТ (на 81 %), кількості ВГ (на 67 %) та у нирках: ГПЛ (на 36 %), ТБП (на 38 %), активності СОД (на 112 %) і КТ (78 %), кількості ВГ (на 56 %), порівняно із групою тварин з ГП без корекції (див. табл. 4). Причому позитивний вплив комбінації препаратів на зазначені показники переважав аналогічні зміни при їх монозастосуванні, що певною мірою завдячує їх здатності за такої комбінації активізувати синтез NO, гальмувати процеси ПОЛ на тлі відновлення активності і вмісту компонентів системи антиоксидантного захисту (АОЗ). Одночасно спостерігалось зростання рівня  $NO_2^-$  (у печінці – на 141 %, у нирках – на 139 %) (48 год), який був вищим (у печінці – на 6 %, у нирках – на 8 %), ніж у серії тварин, які отримували лише LALG (див. табл. 4).

На тлі поєднаного застосування LALG і SODrec активність СДГ і ЦХО зростала (у печінці – на 5 і 15 %, у нирках – на 5 і 6 %) і була вищою, ніж у серії тварин, які отримували LALG, що вказувало на відновлення процесів мітохондріального дихання. Таким чином, при поєднаному застосуванні LALG і SODrec при ГП зростає їх гепато- та нефропротекторна дія. На протилежність цьому, при комбінуванні LALG з AG позитивний вплив на стан печінки та нирок зменшувався, порівняно з результатами, отриманими при введенні лише LALG, що може бути зумовлене блокадою процесу утворення ендogenousного оксиду азоту. При введенні тваринам з перитонітом комбінації LALG та AG зростання вмісту  $MCM_1$  і  $MCM_2$  (на 38 і 19 %) було істотнішим, ніж при монокорекції LALG і свідчить про наростання ендogenousної інтоксикації (рис. 1).

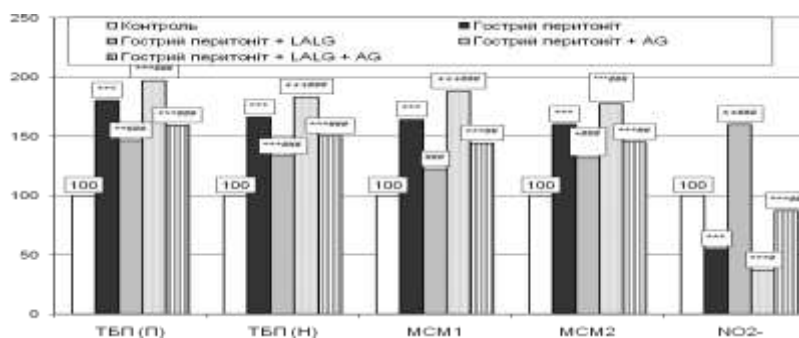


Рис. 1. Зміни ТБП у печінці, нирках та  $MCM_{1-2}$  і  $NO_2^-$  у сироватці крові тварин з гострим



перитонітом та при введенні L-аргініну-L-глутамату, аміногуанідину і їх комбінації на 48 год. експерименту (у відсотках до рівня контролю). (Примітка: \* – вірогідність відмінностей стосовно контрольної групи (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ); # – вірогідність відмінностей стосовно групи з гострим перитонітом (# –  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,01$ ; ### –  $p < 0,001$ ); П – печінка; Н – нирки).

Під впливом комбінації LALG та аміногуанідину у щурів рівень  $\text{NO}_2^-$  у сироватці крові був нижче на 36 % ( $p < 0,001$ ) (порівняно з ГП + LALG) (див. рис. 1). Відмічено, що у тварин даної серії вміст ГПЛ та ТБП у гомогенатах печінки був вищим на 8 і 19 % ( $p < 0,05$ ), у гомогенатах нирок – на 24 % і 26 % ( $p < 0,001$ ), ніж у групі тварин, які отримували лише LALG (див. рис. 1). При поєднаному застосуванні препаратів рівень  $\text{NO}_2^-$  був нижчим на 23 % (печінка) та на 35 % (нирки) ( $p < 0,001$ ) рівня  $\text{NO}_2^-$  – при монотерапії LALG (див. рис. 1).

Активність ферментів системи АОЗ у печінці та нирках піддослідних тварин, яким для корекції вводили комбінацію LALG та AG, була нижчою активності СОД і КТ (у тканині печінки – на 26 % і 30 % ( $p < 0,001$ ), у гомогенатах нирок – на 32 % і 29 % ( $p < 0,001$ ), ніж у групі тварин з ГП, які отримували тільки LALG.

На фоні поєднаного застосування LALG і AG активність СДГ та ЦХО у печінці (на 40 і 41 %) та у нирках (44 і 48 %) була нижчою, ніж активність аналогічних ферментів мітохондрій у групі тварин з ГП, яким вводили окремо LALG. Таким чином, зниження ступеня протекторної дії LALG при його комбінованому застосуванні з AG може свідчити, що у механізмах позитивного впливу LALG на стан печінки та нирок при гострому перитоніті відіграють важливу роль не лише його антиоксидантні властивості, але й здатність стимулювати синтез оксиду азоту.

Отже, отримані нами результати переконливо показали роль системи оксиду азоту в патогенезі гострого перитоніту та ефективність сполук – активаторів синтезу оксиду азоту та ферментів антирадикального захисту, здатних зменшувати прояви ушкодження внутрішніх органів при даній патології та покращувати її перебіг, що обґрунтовує їх подальшу перспективу як засобів корекції у реалізації їх гепато- та нефропротекторних ефектів, що вимагає поглибленого доклінічного дослідження.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає у встановленні ролі системи L-аргінін – NO у патогенезі ураження печінки та нирок при гострому експериментальному перитоніті та доведенні позитивного впливу попередника синтезу оксиду азоту – L-аргініну-L-глутамату і рекомбінантної супероксиддисмутази при їх роздільному та комбінованому застосуванні на порушення метаболічних процесів за умов змодельованої патології.

1. Ураження печінки та нирок при гострому перитоніті нарастає від 12-ої до 48-ої години патологічного процесу і попри активацію процесів пероксидного окиснення ліпідів, зменшення активності та вмісту компонентів антиоксидантної системи, пригнічення енергозabezпечувальних процесів у мітохондріях печінки та нирок, збільшення у сироватці крові вмісту молекул середньої маси і прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6, супроводжується зниженням вмісту нітрит-аніону (у сироватці крові – на 20, 39 і 45 %, у печінці – на 25, 43 % і 47 %, у нирках – на 18, 34 і 41 % відповідно на 12, 24 і 48 год спостереження стосовно контрольної групи).

2. L-аргініну-L-глутамат при гострому перитоніті пропорційно терміну його застосування сприяє відновленню вихідного співвідношення компонентів системи прооксиданти-антиоксиданти, активності ферментів мітохондріального транспорту електронів у печінці та нирках, зниженню рівня ендогенної інтоксикації, що відбувається на тлі зростання вмісту нітрит-аніону (на 48-й годині експерименту у сироватці крові – на 125 %, у печінці – на 130 %, у нирках – на 122 %,  $p < 0,001$ ), ІЛ-10 (на 30 %,  $p < 0,05$ ) та зменшення рівнів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6 – відповідно на 16 % ( $p < 0,001$ ), 25 % ( $p < 0,05$ ) і 28 % ( $p < 0,001$ ) відповідно), порівняно із показниками тварин із гострим перитонітом без корекції.

3. Інгібітор індукцйбельної синтази оксиду азоту аміногуанідин при гострому перитоніті спричиняє через 48 годин подальше прогресування у печінці та нирках пероксидного окиснення ліпідів, зниження активності супероксиддисмутази, каталази та вмісту відновленого глутатіону, сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази, зростання концентрації молекул середньої маси сироватки крові, рівня прозапальних цитокінів, і зниженню вмісту нітрит-аніону (у сироватці крові – на 30 %, у печінці – на 31 %, у нирках – на 27 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з групою тварин з гострим перитонітом без корекції).

4. Рекombінантна супероксиддисмутаза при гострому перитоніті на 48-му год експерименту сприяє зменшенню вмісту показників пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-активних продуктів у печінці – на 35 % ( $p < 0,001$ ), у нирках – на 33 % ( $p < 0,001$ ), зростанню активності та вмісту компонентів антиоксидантної системи та активності ферментів мітохондрій, зниженню рівня показників ендогенної інтоксикації на тлі зменшення концентрації ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6 (відповідно на 23, 40 та 45 %,  $p < 0,001$ ), зростання вмісту ІЛ-10 (на 58 %,  $p < 0,001$ ) і зменшення рівня нітрит-аніону у сироватці крові на 14 % ( $p < 0,01$ ).

5. Позитивний вплив L-аргініну-L-глутамату та рекombінантної супероксиддисмутази на стан печінки та нирок при гострому перитоніті зростає при їх комбiнованому застосуванні, що підтверджується зниженням на 48 год спостереження показників пероксидного окиснення ліпідів, підвищенням активності супероксиддисмутази, каталази, вмісту відновленого глутатіону та ферментів тканинного дихання, зниженням рівнів у сироватці крові молекул середньої маси, еритроцитарного індексу інтоксикації, ФНП- $\alpha$  (на 27 %,  $p < 0,001$ ), ІЛ-1 $\beta$  (на 52 %,  $p < 0,001$ ), ІЛ-6

(на 55 %,  $p < 0,001$ ) та зростанням рівня ІЛ-10 (на 75 %,  $p < 0,001$ ) і нітрит-аніону на 137 % ( $p < 0,001$ ).

6. При комбінованому застосуванні за умов змодельованого гострого перитоніту L-аргініну-L-глутамату з аміногуанідиним відбувається нівелювання позитивного впливу аргініновмісного препарату на показники пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантного захисту та активність мітохондріальних ферментів у печінці та нирках, що підтверджує важливу роль активації синтезу оксиду азоту у механізмах захисної дії L-аргініну-L-глутамату при цьому патологічному процесі.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Посохова К. А. Вплив глутаргіну на стан печінки при гострому перитоніті / К. А. Посохова, В. В. Черняшова // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 1. – С. 102-107. (Здобувачем проаналізовано літературні джерела, проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку і аналіз одержаних результатів, підготовлено статтю до друку).

2. Посохова К. А. Вплив аміногуанідину на метаболічні процеси у печінці та нирках при гострому експериментальному перитоніті / К. А. Посохова, В. В. Черняшова // Вісник наукових досліджень. – 2009. – № 2. – С. 52-54. (Здобувачем проаналізовано літературні джерела, проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку і аналіз одержаних результатів, підготовлено статтю до друку).

3. Черняшова В. В. Вплив глутаргіну та рексоду на стан печінки тварин з гострим експериментальним перитонітом / В. В. Черняшова // Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2009. – Т. 9, вип. 4 (28), част. 3. – С. 159-162.

4. Посохова К. А. Ураження нирок при гострому експериментальному перитоніті та його корекція глутаргіном і рексодом / К. А. Посохова, В. В. Черняшова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 4 (17). – С. 45-50. (Здобувачем проаналізовано літературні джерела, проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку і аналіз одержаних результатів, підготовлено статтю до друку).

5. Черняшова В. В. Вплив рекомбінантної супероксиддисмутази на патогенетичні ланки ураження печінки та нирок при гострому експериментальному перитоніті / В. В. Черняшова // Медична хімія. – 2011. – Т. 13, № 4. – С. 49-53.

6. Черняшова В. Вплив глутаргіну на стан печінки при гострому експериментальному перитоніті / В. Черняшова // XI Ювілейний міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених : Всеукраїнська науково-практична конференція, 10-12 травн. 2007 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2007. – С. 279.

7. Посохова К. А. Вплив рексоду та аміногуанідину на патогенетичні ланки ураження печінки при гострому експериментальному перитоніті / К. А. Посохова, В. В. Черняшова // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2009. – № 2 (11). – С. 137. (Здобувачем

проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

8. Посохова К. А. Особливості впливу аміногуанідину на метаболічні процеси у печінці при гострому експериментальному перитоніті / К. А. Посохова, В. В. Черняшова, А. С. Вольська // Довкілля і здоров'я : Всеукраїнська науково-практична конференція, 24-25 квіт. 2009 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2009. – С. 90-91. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

9. Черняшова В. Вплив аміногуанідину на стан нирок за умов гострого експериментального перитоніту / В. Черняшова, І. Козак // XIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, 27-29 квіт. 2009 р. : матеріали конгр. – Тернопіль, 2009. – С. 230. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

10. Черняшова В. В. Вплив модуляторів синтезу оксиду азоту на стан печінки при гострому експериментальному перитоніті / В. В. Черняшова // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 156.

11. Посохова К. А. Ефективність глутаргіну при ушкодженні печінки та нирок на тлі гострого експериментального перитоніту / К. А. Посохова, В. В. Черняшова // Сучасний стан та перспективи розвитку доказової медицини у вітчизняній охороні здоров'я : Всеукраїнська науково-практична конференція, 28-29 трав. 2009 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2009. – С. 61-62. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

12. Посохова К. А. Вплив попередника та блокатора синтезу оксиду азоту на стан нирок за умов експериментального перитоніту / К. А. Посохова, В. В. Черняшова // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : 3-я науково-практична конференція, 1-2 жовт. 2009 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2009. – С. 129.

13. Посохова К. А. Експериментальне дослідження властивостей L-аргініну та глутаргіну за умов ендогенної інтоксикації при гострому перитоніті / К. А. Посохова, В. В. Черняшова // Проблеми діагностики, профілактики та лікування екзогенних та ендогенних інтоксикацій : науково-практична конференція, 13-14 жовт. 2009 р. : матеріали конф. – Чернівці, 2009. – С. 134. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

14. Посохова К. А. Ураження печінки при гострому експериментальному перитоніті та шляхи його фармакокорекції / К. А. Посохова, В. В. Черняшова // Українські медичні вісті. – 2009. – Т. 8. – С. 212-213. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

15. Виваль М. Вплив рексоду на показники функціонального стану печінки та нирок при

гострому перитоніті / М. Виваль, В. Черняшова // XIV Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, 13-15 квіт. 2010 р. : матеріали конгр. – Тернопіль, 2010. – С. 279. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

16. Черняшова В. В. Вплив рекомбінантної супероксиддисмутази на стан нирок при гострому перитоніті / В. В. Черняшова // Науковий потенціал молоді – прогрес медицини майбутнього : VIII науково-практична конференція студентів та молодих вчених, 14-16 квіт. 2010 р. : матеріали конф. – Ужгород, 2010. – С. 144-145.

17. Черняшова В. В. Цитокиновий статус при гострому перитоніті та застосуванні глютаргіну і аміногуанідину / В. В. Черняшова, О. П. Трубчанін // Безпечність ліків і фактори небажаних ефектів фармакотерапії: науково-практична конференція, 21-22 жовт. 2010 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2010. – С. 49-50. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

18. Черняшова В. В. Вміст цитокинів у сироватці крові тварин при гострому перитоніті та призначенні глютаргіну і рексоду / В. В. Черняшова, К. А. Посохова // Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина : VI Всеукраїнська наук.-практ. конф., 10-11 лист. 2010 р. : матеріали конф. – Вінниця, 2010. – С. 405-406. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

19. Черняшова В. Активність сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази у печінці та нирках при гострому перитоніті та призначенні глютаргіну й аміногуанідину / В. Черняшова, Н. Хамедюк // XV Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, 27-29 квіт. 2011 р. : матеріали конгр. – Тернопіль, 2011. – С. 377. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

20. Черняшова В. В. Динаміка вмісту цитокинів у крові при гострому експериментальному перитоніті та призначенні L-аргініну-L-глутамату / В. В. Черняшова, К. А. Посохова // Український науково-медичний молодіжний журнал. Спеціальний випуск. – 2011. – № 4. – С. 96. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

21. Посохова К. А. Вплив рекомбінантної супероксиддисмутази на рівень про- і протизапальних цитокинів при експериментальному перитоніті / К. А. Посохова, В. В. Черняшова // Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів : XXIX Всеукраїнська науково-практична конференція, 15 березн. 2012 р. : матеріали конф. – Харків, 2012. – С. 129. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, аналіз одержаних результатів, підготовлено матеріал до друку).

## АНОТАЦІЯ

**Черняшова В.В. Патогенетичне обґрунтування застосування L-аргініну-L-глутамату та препарату супероксиддисмутази для корекції ураження печінки та нирок при експериментальному перитоніті.** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Державний вищий навчальний заклад „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”. Тернопіль, 2012.

Дисертація присвячена з'ясуванню особливостей патогенезу ураження печінки та нирок при гострому перитоніті та встановленню впливу попередника синтезу оксиду азоту – L-аргініну-L-глутамату і препарату супероксиддисмутази на перебіг даної експериментальної патології.

Встановлено, що експериментальний гострий перитоніт супроводжується активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів, зменшенням активності та вмісту компонентів антиоксидантної системи і пригніченням енергозабезпечувальних процесів мітохондрій у печінці та нирках, на тлі зростання у сироватці крові вмісту показників ендогенної інтоксикації та прозапальних цитокінів (ФНП- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6), зменшенням вмісту протизапального інтерлейкіну (IL-10) і пригніченням синтезу оксиду азоту. L-аргінін-L-глутамат (LALG) сприяє відновленню вихідного співвідношення компонентів системи прооксиданти-антиоксиданти, активності мітохондріальних ферментів у печінці та нирках, що відбувається на тлі зростання вмісту NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, IL-10 та зменшення рівнів показників ендогенної інтоксикації. Блокатор індукцйбельної NO-синтази аміногуанідин спричиняє подальше прогресування ураження печінки та нирок. Препарат SODrec сприяє зменшенню ступеня ураження внутрішніх органів тварин. При комбінованому застосуванні LALG і SODrec їх позитивний вплив на печінку та нирки піддослідних тварин зростає, що здійснюється за рахунок постачання екзогенної активної форми СОД і зниження рівня супероксидного аніон-радикалу (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) та відновлення синтезу NO. На протилежність цьому, позитивний вплив LALG на стан печінки та нирок при його застосуванні в комбінації з аміногуанідином зменшується, що може бути зумовлене блокадою процесу утворення ендогенного NO останнім і свідчить про важливість цього процесу у реалізації протекторної дії LALG при гострому перитоніті.

**Ключові слова:** перитоніт, оксид азоту, печінка, нирки, L-аргініну-L-глутамат, аміногуанідин, рекомбінантна супероксиддисмутаза.

## АННОТАЦИЯ

**Черняшова В.В. Патогенетическое обоснование применения L-аргинина-L-глутамата и препарата супероксиддисмутазы для коррекции поражения печени и почек при**

**экспериментальном перитоните.** – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Государственное высшее учебное заведение „Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского” МЗ Украины. Тернополь, 2012.

Диссертация посвящена исследованию особенностей патогенеза поражения печени и почек при остром перитоните и установлению влияния предшественника синтеза оксида азота – L-аргинина-L-глутамата и препарата рекомбинантной супероксиддисмутазы на протекание данной экспериментальной патологии.

Исследование проведено на 234 нелинейных белых крысах-самцах с массой тела 140-200 г, которых содержали на стандартном рационе вивария. Экспериментальный острый перитонит моделировали путем внутрибрюшинного введения 5 % каловой смеси.

В работе использованы современные методы исследования: экспериментальный – для моделирования острого перитонита; биохимические – для изучения состояния прооксидантно-антиоксидантной системы и активности митохондриальных ферментов в печени и почках, для оценки уровня образования оксида азота и продуктов эндогенной интоксикации в сыворотке крови при перитоните и в процессе коррекции предшественниками и блокаторами синтеза оксида азота; иммуноферментные – для оценки цитокинового статуса; математические – для статистической обработки цифровых данных путем вариационной статистики с использованием t критерия Стьюдента.

Установлено, что острый перитонит сопровождается активацией процессов перекисного окисления липидов, уменьшением активности и содержания компонентов антиоксидантной системы и угнетением энергообеспечивающих процессов митохондрий в исследуемых органах, на фоне возрастания в сыворотке крови показателей эндогенной интоксикации и провоспалительных цитокинов (ФНП- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , L-6), уменьшением содержания противовоспалительного интерлейкина (IL-10) и угнетением синтеза оксида азота. Предшественник синтеза оксида азота – L-аргинин-L-глутамат способствует восстановлению исходного соотношения компонентов системы прооксиданты-антиоксиданты, активности ферментов митохондриального транспорта электронов в печени и почках, что происходит на фоне возрастания содержания нитрит-аниона, IL-10 и уменьшения показателей эндогенной интоксикации, в сравнении с аналогичными величинами в группе животных с острым перитонитом без коррекции.

Аминогуанидин при данной экспериментальной патологии усугубляет нарушения в системе прооксиданты/антиоксиданты в печени и почках, способствует нарастанию эндогенной интоксикации. Препарат рекомбинантной супероксиддисмутазы способствует уменьшению степени поражения внутренних органов животных при остром перитоните, что проявляется

снижением интенсивности свободнорадикальных процессов, выраженности и длительности эндотоксикоза, дисбаланса в системе про- и противовоспалительных интерлейкинов.

Степень гепато- и нефропротекторной активности L-аргинина-L-глутамата и препарата супероксиддисмутазы увеличивается при их комбинированном применении. При этом в большей мере снижаются показатели перекисного окисления липидов, эндогенной интоксикации, провоспалительных интерлейкинов и существенно возрастают активность и содержание компонентов антиоксидантной системы, митохондриального транспорта электронов в исследуемых органах, по сравнению с группами животных, где эти вещества вводят отдельно.

Напротив, при комбинированном применении L-аргинина-L-глутамата с аминоксидином при остром перитоните положительное влияние прекурсора синтеза оксида азота на состояние печени и почек уменьшается, что свидетельствует о важной роли стимуляции синтеза оксида азота в механизмах протекторной активности L-аргинина-L-глутамата.

**Ключевые слова:** перитонит, оксид азота, печень, почки, L-аргинина-L-глутамат, аминоксидин, рекомбинантная супероксиддисмутаза.

## SUMMARY

**Chernyashova V. V. Pathogenetic substantiation of L-arginine-L-glutamate and superoxide dismutase usage for the liver and kidney damage correction in experimental peritonitis.** – Manuscript.

Dissertation for obtaining a scientific degree of the candidate of medical sciences in speciality 14.03.04 – Pathological physiology. – State Higher Educational Establishment „I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University MPH of Ukraine”. Ternopil, 2012.

Dissertation is dedicated to the studying of peculiarities of the pathogenesis of liver and kidney damage in acute peritonitis and establish the impact of synthesis of nitric oxide precursor – L-arginine-L-glutamate and superoxide dismutase on the experimental pathology.

Experimental acute peritonitis is accompanied by activation of lipid peroxidation, decreased activity and content components of antioxidant system and inhibition of mitochondrial utility processes in organs, in rising serum content of endogenous intoxication indices and of proinflammatory cytokines, reduction of anti-inflammatory interleukin synthesis and inhibition of nitric oxide. LALG helps to restore the original value system components prooxidants-antioxidants, enzymes of mitochondrial electron transport in the liver and kidneys, which is against the growing content of nitrite anion, anti-inflammatory cytokine and reduced levels of endogenous indicators of intoxication, compared with figures of animals with acute peritonitis without correction. Aminoguanidine with peritonitis caused further progression in the liver and kidney lipid peroxidation processes, affects the state of the liver and kidneys. The drug SODrec reduces the degree of damage the internal organs of experimental animals. Combined use LALG and SODrec



exhibit cytoprotective effects on liver and kidney of experimental animals is due to supply exogenous SOD and active forms of superoxide anion reduction-radical ( $O_2^-$ ) and restoration of synthesis of NO. In contrast, positive effects on the state of the liver and kidneys when using LALG in combination with aminoguanidine are smaller compared to the results obtained with mono use only AG, which can be caused by blockage of the process of formation of endogenous nitric oxide last.

**Key words:** peritonitis, nitric oxide, liver, kidney, L-arginine-L-glutamate, aminoguanidine, drug superoxide dismutase.

### ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВГ	– відновлений глутатіон
ГП	– гострий перитоніт
ГПЛ	– гідропероксили ліпідів
ЕП	– еритроцитарний індекс інтоксикації
КТ	– каталаза
МСМ	– молекули середньої маси
ПОЛ	– пероксидне окиснення ліпідів
СДГ	– сукцинатдегідрогеназа
СОД	– супероксиддисмутаза
ТБК	– тіобарбітурова кислота
ТБП	– ТБК-активні продукти
ФНП- $\alpha$	– фактор некрозу пухлин альфа
ЦХО	– цитохромоксидаза
АГ	– аміногуанідин
SODrec	– рекомбінантна супероксиддисмутаза (рексоД)
IL-10	– інтерлейкін-10
IL-1 $\beta$	– інтерлейкін-1 бета
IL-6	– інтерлейкін-6
LALG	– L-аргініну-L-глутамат
NO	– оксид азоту
NO $_2^-$	– нітрит-аніон
NOS	– синтаза оксиду азоту
O $_2$	– супероксидний аніон-радикал