

СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ НИРОК ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АНТИФОСФОЛІПІДНОМУ СИНДРОМІ ТА ДІЇ МОДУЛЯТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ

Вступ. Антифосфоліпідний синдром (АФС) належить до найактуальніших мультидисциплінарних проблем сучасної медицини. Частота ураження нирок при АФС становить 25–78 %.

Мета дослідження – вивчити вплив комбінованої дії L-аргініну й аміногуанідину на стан показників вільнорадикального окиснення та тканинного дихання в нирках при експериментальному АФС і на тлі вагітності у тварин із цією патологією.

Методи дослідження. Дослідження виконано на мишах-самках лінії BALB/c, в яких моделювали АФС. Для корекції використовували L-аргінін (25 мг/кг) та аміногуанідин (10 мг/кг). Досліджували в нирках тварин з АФС до вагітності й на 18-й день вагітності активність та вміст компонентів антиоксидантної системи (супероксиддисмутази, каталази, відновленого глутатіону), вміст гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів, активність сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази.

Результати й обговорення. У нирках мишей лінії BALB/c з АФС активувалися процеси пероксидного окиснення ліпідів, порушувалася рівновага в системі прооксиданти – антиоксиданти. При проведенні досліджень на 18-й день вагітності в нирках тварин з АФС спостерігали достовірне збільшення вільнорадикального окиснення, зменшення активності ензимів антиоксидантного захисту та дихального ланцюга мітохондрій порівняно з показниками контрольної групи вагітних мишей. При комбінованому введенні L-аргініну та аміногуанідину тваринам з АФС у нирках знижувалися вміст ТБК-активних продуктів (на 33 %) та активність супероксиддисмутази (на 15 %), зростали активність каталази (на 12 %), сукцинатдегідрогенази (на 16 %), цитохромоксидази (на 13 %) і вміст відновленого глутатіону (на 23 %) порівняно з показниками мишей з АФС. На фоні комбінованого застосування L-аргініну та аміногуанідину реєстрували послаблення активності процесів вільнорадикального окиснення та активацію системи антиоксидантного захисту в тканині нирок вагітних тварин з АФС. Встановлено достовірне підвищення активності сукцинатдегідрогенази на (18 %) та цитохромоксидази (на 75 %) порівняно з показниками вагітних самок з АФС.

Висновки. При експериментальному АФС у тканині нирок невагітних та вагітних мишей лінії BALB/c відбуваються активація вільнорадикального окиснення, порушення рівноваги в системі прооксиданти – антиоксиданти. На фоні комбінованого введення L-аргініну та аміногуанідину в тканині нирок тварин з АФС (вагітних і невагітних) зменшуються прояви оксидативного стресу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: антифосфоліпідний синдром; нирки; вагітність; L-аргінін; аміногуанідин.

ВСТУП. Антифосфоліпідний синдром (АФС) належить до найактуальніших мультидисциплінарних проблем сучасної медицини. Це системне аутоімунне захворювання, що характеризується судинними тромбозами, патологією вагітності, наявністю в крові антифосфоліпідних антитіл до негативно заряджених фосфоліпідів мембран, які містяться в плазмі крові [1, 2]. Поширеність АФС-нефропатії при первинному АФС становить 25–63 %, при вторинному – 32–68 %, при катастрофічному – 78 % [3]. За умов АФС уражається будь-яка частина судинної системи

© О. З. Яремчук, 2019.

нирок. АФС-нефропатія розвивається внаслідок тромбозів ниркових артерій чи вен, внутрішньопаренхіматозних артерій та клубочкових капілярів. У механізмах її розвитку значну роль відіграє активація судинного ендотелію і тромбоцитів, зумовлена взаємодією АФЛ з ендотеліальними клітинами капілярів. АФС-нефропатія, зумовлена тромботичною мікроангіопатією судин, призводить до порушення внутрішньониркової мікроциркуляції з розвитком ішемії нирок і ниркової недостатності [2, 4, 5].

За даними літератури, оксидативний стрес є важливою ланкою патобіохімічних механізмів

розвитку АФС, у тому числі при системному червоному вовчаку і нирковій недостатності, що виникає на його основі [6–9]. При акушерському АФС в ендотелії порушуються синтез та біодоступність оксиду азоту (NO), який бере участь у регуляції судинного тонуусу і коагуляційних властивостей крові [10].

Водночас відсутня єдина точка зору щодо ролі оксидативного стресу та системи NO в механізмах ураження нирок за умов АФС [1, 6, 7, 10].

Мета дослідження – вивчити вплив комбінованої дії попередника синтезу оксиду азоту L-аргініну й інгібітора індукцибельної NO-синтази аміногуанідину на стан окремих показників вільнорадикального окиснення та тканинного дихання в нирках при експериментальному антифосфоліпідному синдромі й на тлі вагітності у тварин із цією патологією.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на 60 мишах-самках лінії BALB/c, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Експерименти виконували з дотриманням принципів біоетики відповідно до Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2000), узгоджених з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) і Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах.

Антифосфоліпідний синдром моделювали за допомогою кардіоліпіну (“Sigma”, США), який вводили внутрішньом’язово, 4 рази (30 мг на одну ін’єкцію, проміжки між ін’єкціями становили 14 діб) [11]. Для підвищення ефективності імунної відповіді кардіоліпін емульгували в 75 мкл повного ад’юванту Фрейнда (перша ін’єкція), наступні ін’єкції проводили з неповним ад’ювантом Фрейнда. Синдром формувався через 2 тижні після останньої ін’єкції кардіоліпіну.

Піддослідних тварин поділили на 6 груп: 1-ша і 2-га – інтактні; 3-тя і 4-та – миші з АФС; 5-та і 6-та – тварини з АФС, яким вводили внутрішньочеревно L-аргінін (“Sigma”, США, 25 мг/кг) та аміногуанідин (“Хімлабораторреактив”, Україна, 10 мг/кг). Через 10 діб з моменту підтвердження АФС тварин 1-ї, 3-ї та 5-ї груп виводили з експерименту за умов тіопентал-натрієвого наркозу. Самок 2-ї, 4-ї та 6-ї груп спарювали із самцями та виводили з експерименту на 18-й день вагітності.

Тканину нирок охолоджували в середовищі виділення, яке містило 0,25 М сахарози, 1 мМ ЕДТА та 10 мМ трис-НСІ-буфер (рН 7,4) [12]. У гомогенатах тканини нирок визначали: рівень

продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів за вмістом гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [13], ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [14], активність супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) [15] і каталази (КАТ, КФ 1.11.1.6) [16], вміст відновленого глутатіону (G-SH) [17], активність сукцинатдегідрогенази (СДГ, КФ 1.3.99.1) [18] та цитохромоксидази (ЦХО, КФ 1.9.3.1) [19]. Для підтвердження розвитку АФС проводили реакцію мікропреципітації з кардіоліпіновим антигеном із використанням тест-системи “Антиген кардіоліпіновий, для реакції мікропреципітації” (“Біолік”, Україна) [11]. Концентрацію розчинних білків у гомогенаті визначали за методом Лоурі [20].

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми STATISTICA 10. Порівнювали отримані величини з використанням U-критерію Манна – Уїтні. Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті проведених досліджень встановлено, що у групах тварин з АФС (3–6 групи) реакція мікропреципітації була позитивною, що підтверджувало розвиток АФС [11].

Встановлено, що в нирках мишей лінії BALB/c з АФС активуються процеси пероксидного окиснення ліпідів [21]. Спостерігали підвищення вмісту ГПЛ (на 27 %), ТБК-АП (на 57 %), активності СОД (на 23 %) та зниження активності КАТ (на 13 %), пулу G-SH (на 14 %) порівняно з аналогічними показниками інтактних тварин (табл. 1). Вказані зміни супроводжувались порушенням тканинного дихання, про що свідчило зменшення активності СДГ (на 22 %) та ЦХО (на 33 %) порівняно з контролем (табл. 2).

При проведенні досліджень на 18-й день вагітності встановлено, що у тварин 4-ї групи зростав вміст ГПЛ (на 38 %) і ТБК-АП (на 87 %) (табл. 3). Водночас спостерігали достовірне зниження активності ензимів системи антиоксидантного захисту (СОД – на 41 % і КАТ – на 46 %) та вмісту G-SH (на 38 %) порівняно з контрольною групою вагітних мишей. У тварин 4-ї групи також виявлено порушення функціонування електронно-транспортного ланцюга мітохондрій у нирках, про що свідчило зменшення активності СДГ (на 41 %) та ЦХО (на 53 %) (табл. 2).

За даними літератури, збільшення активних форм кисню, зокрема супероксидного аніон-радикала, може індукувати зростання активності СОД на початкових етапах оксидативного стресу [10]. Зниження активності ензимів електронно-транспортного ланцюга свідчить про пригнічення функції мітохондрій, що може супроводжуватись зменшенням вмісту макроер-

Таблиця 1 – Показники системи прооксиданти – антиоксиданти в нирках мишей лінії BALB/c за умов антифосфоліпідного синдрому та при комбінованому застосуванні L-аргініну й аміногуанідину ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група тварин		
	контроль	АФС	АФС+L-аргінін+аміногуанідин
ГПЛ, ум. од./г тканини	10,80±0,43	13,70±0,60 $p < 0,01$	14,20±0,30 $p > 0,05$
ТБК-АП, нмоль/г тканини	4,97±0,21	7,79±0,53 $p < 0,01$	5,26±0,31 $p < 0,01$
СОД, ум. од./мг протеїну	7,33±0,57	9,02±0,34 $p < 0,05$	7,71±0,40 $p < 0,05$
КАТ, нмоль/хв на 1 мг протеїну	7,05±0,23	6,16±0,13 $p < 0,05$	6,89±0,20 $p < 0,05$
G-SH, мкмоль/г тканини	2,81±0,08	2,43±0,07 $p < 0,05$	3,00±0,13 $p < 0,01$

Таблиця 2 – Показники системи мітохондріального транспорту електронів у нирках мишей лінії BALB/c за умов антифосфоліпідного синдрому до вагітності й на 18-й день вагітності та при комбінованому введенні L-аргініну й аміногуанідину ($M \pm m$, $n=10$)

Група тварин	Показник	
	активність СОД, нмоль/хв·мг протеїну	активність ЦХО, мкмоль/хв·мг протеїну
Контроль	6,70±0,43	5,45±0,37
Контроль (на 18-й день вагітності)	7,61±0,30	7,90±0,28
АФС	5,25±0,02 $p < 0,05$	3,67±0,14 $p < 0,005$
АФС (на 18-й день вагітності)	4,51±0,06 $p < 0,001$	3,72±0,31 $p < 0,001$
АФС+L-аргінін+аміногуанідин	6,11±0,16 $p < 0,01$	4,13±0,08 $p < 0,05$
АФС+L-аргінін+аміногуанідин (на 18-й день вагітності)	5,30±0,07 $p < 0,001$	6,50±0,36 $p < 0,001$

Таблиця 3 – Показники системи прооксиданти – антиоксиданти в нирках мишей лінії BALB/c за умов антифосфоліпідного синдрому на 18-й день вагітності та при комбінованому введенні L-аргініну й аміногуанідину ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група тварин		
	контроль	АФС	АФС+L-аргінін+аміногуанідин
ГПЛ, ум. од./г тканини	12,40±0,53	17,20±0,58 $p < 0,001$	14,70±0,40 $p < 0,05$
ТБК-АП, нмоль/г тканини	6,48±0,26	12,13±0,26 $p < 0,001$	7,51±0,39 $p < 0,001$
СОД, ум. од./мг протеїну	8,68±0,35	5,12±0,19 $p < 0,001$	7,95±0,67 $p < 0,01$
КАТ, нмоль/хв на 1 мг протеїну	6,33±0,48	3,40±0,21 $p < 0,001$	5,66±0,24 $p < 0,001$
G-SH, мкмоль/г тканини	2,52±0,10	1,58±0,11 $p < 0,001$	2,39±0,07 $p < 0,001$

гічних сполук, та негативно позначається на перебігу біохімічних процесів у нирках при АФС [8, 21, 22]. Отримані результати узгоджуються з даними С. Perez-Sanchez та співавт. [8]. При активації процесів переокиснення мембранних ліпідів, у тому числі, знижується енергозабезпечення клітин внаслідок ушкодження мітохондрій [6].

Таким чином, за умов експериментального АФС у тканині нирок мишей лінії BALB/c до ва-

гітності та на 18-й день вагітності активується вільнорадикальне окиснення, порушується рівновага в системі прооксиданти – антиоксиданти, що супроводжується накопиченням продуктів пероксидного окиснення ліпідів, дискоординацією активності та вмісту компонентів антиоксидантного захисту й електронно-транспортного ланцюга мітохондрій.

У результаті проведених досліджень встановлено, що при комбінованому введенні L-ар-

гініну та аміногуанідину мишам з АФС вміст ГПЛ у нирках достовірно не відрізнявся від аналогічного показника тварин 3-ї групи (табл. 1). Водночас зменшувався вміст ТБК-АП (на 33 %) порівняно з мишами з АФС. Спостерігали нормалізацію активності СОД, про що свідчило достовірне зниження останньої на 15 % порівняно з тваринами з АФС. Активність КАТ зростала на 12 %, а вміст G-SH збільшувався на 23 % порівняно з мишами 3-ї групи. Активність мітохондріальних СДГ та ЦХО підвищувалась, відповідно, на 16 і 13 % порівняно з тваринами 3-ї групи (табл. 2).

На фоні комбінованого введення L-аргініну та аміногуанідину вагітним мишам 6-ї групи у тканині нирок відмічено послаблення активності процесів переокиснення мембранних ліпідів. У нирках достовірно знижувався вміст ГПЛ (на 14 %) і ТБК-АП (на 38 %) порівняно з показниками тварин 4-ї групи (табл. 3). Про активацію системи антиоксидантного захисту в нирках мишей цієї групи при застосуванні L-аргініну та аміногуанідину свідчило підвищення активності СОД та КАТ (на 55 і 66 % відповідно) порівняно з тваринами з АФС. Вміст G-SH збільшувався на 51 % порівняно з аналогічним показником у мишей 4-ї групи. Спостерігали зростання активності мембранозв'язаних ензимів мітохондрій

СДГ (на 18 %) та ЦХО (на 75 %) порівняно з тваринами з АФС (табл. 2).

Отже, комбіноване введення L-аргініну й аміногуанідину при АФС і на 18-й день вагітності у тварин з АФС супроводжується зменшенням проявів вільнорадикального окиснення в тканині нирок, що проявляється зниженням активності процесів пероксидного окиснення ліпідів, підвищенням активності та вмісту компонентів антиоксидантної системи й ензимів електронно-транспортного ланцюга мітохондрій.

ВИСНОВКИ. 1. У тканині нирок мишей лінії BALB/c при експериментальному антифосфоліпідному синдромі до вагітності та на її фоні (на 18-й день) відбуваються активація вільнорадикального окиснення, порушення рівноваги в системі прооксиданти – антиоксиданти.

2. На фоні комбінованого введення L-аргініну та аміногуанідину при антифосфоліпідному синдромі й на тлі вагітності у тварин із цим синдромом спостерігають зменшення проявів оксидативного стресу в тканині нирок, що проявляється зниженням активності процесів пероксидного окиснення ліпідів, підвищенням активності та вмісту компонентів антиоксидантної системи й ензимів електронно-транспортного ланцюга мітохондрій.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Tektonidou M. G. Task force report on non-criteria manifestation: nephropathy. Antiphospholipid syndrome: insights and highlights from the 13th International Congress on antiphospholipid antibodies / M. G. Tektonidou, H. E. Adroque, S. T. Vaidya. – Ed. by D. Erkan, S. Pierangeli. – Springer, New York, 2012. – P. 207–222.
2. Головач И. Ю. Поражение почек на фоне антифосфолипидного синдрома / И. Ю. Головач, Е. Д. Егудина, Д. Г. Рекалов // *Kidneys*. – 2019. – 8, № 3. – P. 161–173.
3. Особенности поражения почек, обусловленного сочетанием гломерулонефрита и АФС-ассоциированной нефропатии при системной красной волчанке (обзор литературы и собственное наблюдение) / Н. Л. Козловская, Е. В. Захарова, Д. В. Зверев [и др.] // *Нефрология и диализ*. – 2007. – № 9 (4). – С. 439–446.
4. Renal involvement in antiphospholipid syndrome / F. V. A. de Azevedo, D. G. Maia, J. F. de Carvalho [et al.] // *Rheumatol Int.* – 2018. – 38, No. 10. – P. 1777–1789. doi: 10.1007/s00296-018-4040-2.
5. Tektonidou M. G. Antiphospholipid syndrome nephropathy: from pathogenesis to treatment / M. G. Tektonidou // *Front. Immunol.* – 2018. – 9. – P. 1181–1187.
6. Enhanced lipid peroxidation in patients positive for antiphospholipid antibodies / L. Iuliano, D. Practico,

D. Ferro [et al.] // *Blood*. – 1997. – 90, No. 10. – P. 3931–3935.

7. Clinical relevance of nitric oxide metabolites and oxidative stress in thrombotic primary antiphospholipid syndrome / P. R. J. Ames, J. R. Batuca, A. Ciampa [et al.] // *The Journal of Rheumatology*. – 2010. – 37, No. 12. – P. 2523–2530.

8. Mitochondrial dysfunction in antiphospholipid syndrome: implications in the pathogenesis of the disease and effects of coenzyme Q10 treatment / C. Perez-Sanchez, P. Ruiz-Limon, M. Angeles Aguirre [et al.] // *Blood*. – 2012. – 119, No. 24. – P. 5859–5870.

9. Oxidative stress in the pathogenesis of atherothrombosis associated with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus: new therapeutic approaches / Ch. Lopez-Pedreira, N. Barbarroja, Y. Jimenez-Gomez [et al.] // *Rheumatology*. – 2016. – 55. – P. 2096–2108.

10. Antiphospholipid antibodies are associated with enhanced oxidative stress, decreased plasma nitric oxide and paraoxonase activity in an experimental mouse model / J. D. Alves, L. J. Mason, P. R. J. Ames [et al.] // *Rheumatology*. – 2005. – 44. – P. 1238–1244.

11. Морфологічний стан матки та плаценти при експериментальному моделюванні гестаційного ан-

тифосфоліпідного синдрому на мишах / Г. В. Зайченко, Ю. Б. Лар'яновська, Т. В. Деєва [та ін.] // Укр. мед. альм. – 2011. – 14, № 4. – С. 136–141.

12. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.

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. 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.

15. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

16. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

17. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – 82. – P. 70–77.

18. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л. : Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. – С. 207–210.

19. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // Современные методы в биохимии / Р. С. Кривченкова ; под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.

20. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. M. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – 193, No. 1. – P. 265–275.

21. Яремчук О. З. Вплив L-аргініну та аміноуганідину на показники вільнорадикального окиснення у нирках при експериментальному антифосфоліпідному синдромі / О. З. Яремчук, К. А. Посохова, М. І. Куліцька // Світ медицини та біології. – 2018. – № 3 (65). – С. 210–214.

22. Pope S. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neurodegeneration; cardiolipin a critical target? / S. Pope, J. M. Land, S. J. R. Heales // Biochimica et Biophysica Acta. – 2008. – 1777 (7–8). – P. 794–799.

REFERENCES

1. Tektonidou, M.G., Adrogué, H.E., & Vaidya, S. (2012). Task force report on non-criteria manifestation: nephropathy. Antiphospholipid syndrome: insights and highlights from the 13th International Congress on antiphospholipid antibodies. Erkan, D., & Pierangeli, S. (Ed.). Springer, New York, 207-222.

2. Golovach, I.I., Egudina, E.D., Rekalov, D.G. (2019). Porazhenie pochek na fone antifosfolipidnogo sindroma [Kidney damage on the background of antiphospholipid syndrome]. *Kidneys*, 8 (3), 161-173. doi: 10.20214/2307-1257.8.3.2019.176455 [in Russian].

3. Kozlovskaya, N.L., Zakharova, E.V., Zverev, D.V., Sukhanov, A.V., Koen, A., Avdeyeva, O.N., & Epifanova, S.N. (2007). Osobennosti porazheniya pochek, obuslovlennogo sochetaniyem glomerulonefrita i AFS-assotsirovannoy nefropatii pri sistemnoy krasnoy volchanke (obzor literatury i sobstvennoe nablyudenie) [Features of kidney damage due to a combination of glomerulonephritis and APS-associated nephropathy with systemic lupus erythematosus (review and own observation)]. *Nefrologiya i dializ – Nephrology and Dialysis*, 9 (4), 439-446 [in Russian].

4. Azevedo de, F.V.A., Maia, D.G., de Carvalho, J.F., & Rodrigues, C.E.M. (2018). Renal involvement in antiphospholipid syndrome. *Rheumatol. Int.*, 38 (10), 1777-1789. doi: 10.1007/s00296-018-4040-2.

5. Tektonidou, M.G. (2018). Antiphospholipid syndrome nephropathy: from pathogenesis to treatment. *Front. Immunol.*, 9, 1181-7.

6. Iuliano, L., Practico, D., & Ferro D. (1997). Enhanced lipid peroxidation in patients positive for antiphospholipid antibodies. *Blood*, 90 (10), 3931-3935.

7. Ames, P.R.J., Batuca, J.R., Ciampa, A., Coone, L.I., & Alves, J.D. (2010). Clinical relevance of nitric

oxide metabolites and nitrate stress in thrombotic primary antiphospholipid syndrome. *The Journal of Rheumatology*, 37 (12), 2523-2530.

8. Perez-Sanchez, C., Ruiz-Limon, P., & Aguirre, M.A. (2012). Mitochondrial dysfunction in antiphospholipid syndrome: implications in the pathogenesis of the disease and effects of coenzyme Q10 treatment. *Blood*, 119 (24), 5859-5870.

9. Lopez-Pedreira, Ch., Barbarroja, N., Jimenez-Gomez, Y., Collantes-Estevez, E., Aguirre, M.A., Cuadrado, M.J. (2016). Oxidative stress in the pathogenesis of atherothrombosis associated with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus: new therapeutic approaches. *Rheumatology*, 55, 2096-2108.

10. Alves, J.D., Mason, L.J., & Ames P.R.J. (2005). Antiphospholipid antibodies are associated with enhanced oxidative stress, decreased plasma nitric oxide and paraoxonase activity in an experimental mouse model. *Rheumatology*, 44, 1238-1244.

11. Zaichenko, H.V., Larianovska, Iu.B., & Deieva, T.V. (2011). Morfolohichni stan matky ta platsenty pry eksperymentalnomu modeliuvanni hestatsiinoho antyfosfolipidnoho syndromu na myshakh [Morphological state of the uterus and placenta in experimental modeling of gestational antiphospholipid syndrome in mice]. *Ukrainskyi medychnyi almanakh – Ukrainian Medical Almanac*, 14 (4), 136-141 [in Ukrainian].

12. Камышников, В.С. (2004). *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике [Manual on clinical biochemical research and laboratory diagnostics]*. Moscow: MEDpress-inform [in Russian].

13. Gavrillov, V.B., & Mishkorudnaya, M.I. (1983). *Спектрофотометрическое определение содержания*

gidroperekisey lipidov v plazme krovi [Spectrophotometric determination of the content of lipids hydroperoxides in blood plasma]. *Lab. delo – Lab. Work*, 3, 33-35 [in Russian].

14. Andreeva, L.I., Kozhemyakin, L.A., & Kishkun, A.A. (1988). Modifikatsiya metoda opredeleniya perekisey lipidov v teste s tiobarbiturovoy kislotoy [Modification of the method for determining lipid peroxides in a test with thiobarbituric acid]. *Lab. delo – Lab. Work*, 11, 41-43 [in Russian].

15. Chevari, S., Chaba, I., & Sekey, I. (1985). Rol superoksiddismutazy v oksidativnykh protsessakh kletki i metod opredeleniya ee v biologicheskikh materialakh [The role of superoxide dismutase in the oxidative processes of the cell and the method for its determination in biological materials]. *Lab. delo – Lab. Work*, 11, 678-681 [in Russian].

16. Korolyuk, M.A., Ivanova, L.I., & Mayorova, I.G. (1988). Metod opredeleniya aktivnosti katalazy [Method for determining the activity of catalase]. *Lab. delo – Lab. Work*, 1, 16-19 [in Russian].

17. Ellman, G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys*, 82, 70-77.

18. Eshchenko, N.D., & Volskii, G.G. (1982). Opredeleniye kolichestva yantarnoy kisloty i aktivnosti suksinatdegidrogenazy [Determination of amber acid

and succinate dehydrogenase activity]. *Metody biokhimicheskikh issledovaniy – Methods of Biochemical Research*. Leningrad: Izd-vo Leningradskogo universiteta [in Russian].

19. Krivchenkova, R.S. (1977). Opredeleniye aktivnosti tsitokhromoksidazy v suspenzii mitokhondriy [Determination of the activity of cytochrome oxidase in suspension of mitochondria]. *Sovremennyye metody v biokhimii – Modern Methods in Biochemistry*. Orekhovich, V.N. (Eds.). Moscow: Meditsina [in Russian].

20. Lowry, O.M., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193 (1), 265-275.

21. Yaremchuk, O.Z., Posokhova, K.A., & Kulitska, M.I. (2018). Vplyv L-argininu ta aminoguanidynu na pokaznyky vilnoradykalnoho okysnennia u nyrkakh pry eksperymentalnomu antyfosfolipidnomu syndromi [Influence of L-arginin and aminoguanidine on renal free-radical oxidation rates in cases of experimental antiphospholipid syndrome]. *Svit medytsyny ta biolohii – World of Medicine and Biology*, 3 (65), 210-214 [in Ukrainian].

22. Pope, S., Land, J.M., & Heales, S.J.R. (2008) Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neurodegeneration; cardiolipin a critical target? *Biochim. et Biophysica Acta.*, 1777 (7-8), 794-799.

О. З. Яремчук

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО
МОЗ УКРАИНЫ

СОСТОЯНИЕ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АНТИФОСФОЛИПИДНОМ СИНДРОМЕ И ДЕЙСТВИИ МОДУЛЯТОРОВ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА

Резюме

Вступление. Антифосфолипидный синдром (АФС) относится к наиболее актуальным мультидисциплинарным проблемам современной медицины. Частота поражения почек при АФС составляет 25–68 %.

Цель исследования – изучить влияние комбинированного действия L-аргинина и аминоксидина на состояние показателей свободнорадикального окисления и тканевого дыхания в почках при экспериментальном АФС и на фоне беременности у животных с этой патологией.

Методы исследования. Исследование выполнено на мышах-самках линии BALB/c, у которых моделировали АФС. Для коррекции использовали L-аргинин (25 мг/кг) и аминоксидин (10 мг/кг). Исследовали в почках животных с АФС до беременности и на 18-й день беременности активность и содержание компонентов антиоксидантной системы (супероксиддисмутазы, каталазы, восстановленного глутатиона), содержание гидропероксидов липидов и ТБК-активных продуктов, активность сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы.

Результаты и обсуждение. В почках мышей линии BALB/c с АФС активировались процессы перекисного окисления липидов, нарушалось равновесие в системе прооксиданты – антиоксиданты. При проведении исследований на 18-й день беременности в почках животных с АФС наблюдали достоверное увеличение свободнорадикального окисления, уменьшение активности ферментов антиоксидантной защиты и дыхательной цепи митохондрий по сравнению с показателями контрольной группы беременных мышей. При комбинированном введении L-аргинина и аминоксидина животным с АФС в почках снижались содержание ТБК-активных продуктов (на 33 %) и активность супероксиддисмутазы (на 15 %), возрастала активность каталазы (на 12 %), сукцинатдегидрогеназы (на 16 %), цитохромоксидазы (на 13 %) и содержание восстановленного глутатиона (на 23 %) по сравнению с показателями мышей с АФС. На фоне комбинированного применения L-аргинина и аминоксидина регистрировали ослабление активности

процессов свободнорадикального окисления и активацию системы антиоксидантной защиты в ткани почек беременных животных с АФС. Установлено достоверное повышение активности сукцинатдегидрогеназы (на 18 %) и цитохромоксидазы (на 75 %) по сравнению с показателями беременных самок с АФС.

Выводы. При экспериментальном АФС в ткани почек небеременных и беременных мышей линии BALB/c происходят активация свободнорадикального окисления, нарушение равновесия в системе про-оксиданты – антиоксиданты. На фоне комбинированного введения L-аргинина и аминогуанидина в ткани почек животных с АФС (беременных и небеременных) уменьшаются проявления оксидативного стресса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: антифосфолипидный синдром; почки; беременность; L-аргинин; аминогуанидин.

O. Z. Yaremchuk

I. HORBACHEVSKY TERNOPII NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

PROOXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM OF KIDNEYS IN CASE OF EXPERIMENTAL ANTIFOSPHOLIPID SYNDROME AND NITRIC OXIDE SYNTHESIS MODULATORS EFFECT

Summary

Introduction. Antiphospholipid syndrome (APS) is one of the most urgent multidisciplinary issues of contemporary medicine. The frequency of kidney damage in cases of APS is 25–78 %.

The aim of the study – to investigate the combined effect of L-arginine and aminoguanidine on the indicators of free radical oxidation and tissue respiration in the kidneys in cases of experimental APS as well as in pregnant animals with this disorder.

Research Methods. The BALB/c female mice with simulated APS were used in the study. L-arginine (25 mg/kg) and aminoguanidine (10 mg/kg) were used for APS correction. The activity and content of antioxidant system components (superoxidedismutase, catalase, reduced glutathione), the content of lipid hydroperoxides and TBA-reactive substances, the activity of succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase in the kidneys of animals with APS were evaluated before pregnancy and on the 18th day of pregnancy.

Results and Discussion. The study results proved that lipid peroxidation processes in the kidneys of BALB/c mice with APS were activated, the prooxidant-antioxidants system was misbalanced. During the research on the 18th day of pregnancy in the kidneys of animals with APS a significant increase in free radical oxidation was revealed, as well as a decrease in the antioxidant enzymes activity and respiratory chain of mitochondria, compare to the control group of pregnant mice. In cases of combined administration of L-arginine and aminoguanidine to the animals with APS, a decrease in the content of TBA-reactive substances by 33 % as well as in superoxidedismutase activity by 15 %, an increase in activity of catalase by 12 %, of succinate dehydrogenase by 16 %, of cytochrome oxidase by 13 % as well as in reduced glutathione content by 23 %, respectively, took place in the animals' kidneys, compare to the animals with APS only. A combined effect of L-arginine and aminoguanidine caused decreased activity of free-radical oxidation processes as well as activation of antioxidant protection was evidenced in the kidney tissue of the pregnant mice with APS. A significant increase in activity of succinate dehydrogenase by 18 % and cytochrome oxidase by 75 % was proved, compare to the pregnant females with APS.

Conclusions. In experimental APS in the kidney tissue of non-pregnant and pregnant BALB/c mice, the activation of free radical oxidation took place, prooxidant-antioxidant system was misbalanced. In cases of combined administration of L-arginine and aminoguanidine in APS in both groups of animals with APS (pregnant and non-pregnant), the reducing of oxidative stress manifestations.

KEY WORDS: antiphospholipid syndrome; kidneys; pregnancy; L-arginine; aminoguanidine.

Отримано 01.08.19

Адреса для листування: О. З. Яремчук, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: yaremchuk@tdmu.edu.ua.