

ВПЛИВ L-АРГІНІНУ ТА АМІНОГУАНІДИНУ НА РОЗВИТОК ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЛЕГЕНЯХ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АНТИФОСФОЛІПІДНОМУ СИНДРОМІ

Вступ. Антифосфоліпідний синдром – це автоімунне захворювання, що супроводжується утворенням антифосфоліпідних антитіл, які спричиняють тромбози вен та артерій, а також сприяють невиношуванню вагітності. При цьому активуються процеси вільнорадикального окиснення, що є наслідком ішемії, виснажується антиоксидантна система, чим поглиблюється ураження легень.

Мета дослідження – вивчити стан прооксидантно-антиоксидантної системи у тканині легень за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому і при використанні модуляторів синтезу нітроген оксиду (L-аргініну та аміногуанідину).

Методи дослідження. Моделювання антифосфоліпідного синдрому проводили на самках мишей лінії BALB/c. У тканині легень визначали рівень продуктів вільнорадикального окиснення та активність антиоксидантних ензимів на тлі антифосфоліпідного синдрому і при використанні L-аргініну й аміногуанідину.

Результати й обговорення. За умов експериментального антифосфоліпідного синдрому в легенях мишей спостерігали збільшення вмісту гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів, пригнічення активності супероксиддисмутази і каталази, виснаження пулу відновленого глутатіону, порушення активності ензимів дихального ланцюга – сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази. Встановлено позитивну динаміку у відновленні компонентів антиоксидантної системи та зменшення деструктивного впливу вільних радикалів на тканину легень при окремому і комбінованому введенні L-аргініну та аміногуанідину.

Висновки. Тромбози та ішемії, які виникають при антифосфоліпідному синдромі, порушують рівновагу в системі прооксиданти – антиоксиданти, підсилюючи утворення активних форм кисню і пригнічуючи захисні функції. Комбіноване застосування L-аргініну та аміногуанідину при антифосфоліпідному синдромі сприяє зменшенню проявів оксидативного стресу в легенях, зокрема зниженню рівня пероксидного окиснення ліпідів, відновленню активності та вмісту компонентів антиоксидантної системи, що супроводжується відновленням активності ензимів дихального ланцюга мітохондрій.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: антифосфоліпідний синдром; оксидативний стрес; L-аргінін; аміногуанідин.

ВСТУП. Антифосфоліпідний синдром (АФС) – це автоімунний процес, який характеризується венозним та артеріальним тромбозом, невиношуванням вагітності з постійною циркуляцією антифосфоліпідних антитіл (АФА). У патогенезі АФС важливу роль відіграють вовчаковий антикоагулянт та антитіла до β -2-глікопротеїну I [1–3]. Раніше вважали, що АФА зв'язуються з кардіоліпіном, проте зараз відомо, що вони спрямовані проти протеїнів, зчеплених із фосфоліпідами у клітинній мембрані. Основним антигеном вважають β -2-глікопротеїн I, проте він не є тромбогенним, тому механізми виникнення тромбозу і втрати вагітності при АФС залишаються до кінця не вивченими [2, 4]. За даними літератури, © Н. Я. Мехно, О. З. Яремчук, 2022.

до головних механізмів розвитку тромбозів при АФС належать активація судинних клітин, інгібування природних систем фібринолізу та антикоагуляції і прокоагулянтний вплив позаклітинних везикул. Окрім впливу на ендотеліальні клітини, функцію нейтрофілів, моноцитів, тромбоцитів, АФА активують процеси оксидативного стресу та системи комплементу [1, 4]. Сучасні дослідження активації комплементу вказують на його критичну роль в АФА-опосередкованому тромбозі й акушерському ускладненні [5]. Поширеність АФС досягає 40–50 випадків на 100 000 осіб. Клінічні прояви включають тромбоцитопенію, венозний тромбоз, повторну втрату вагітності, інсульт, ураження серцевих клапанів, мігрень, хорею, сітчасте ліведо, гломерулонефрит, нек-

роз кісток та ін. В АФА-позитивних пацієнтів маніфестація є досить різноманітною і включає декілька легеневих проявів. Найчастішим легеневим ускладненням на тлі АФС є тромбоемболія легеневої артерії, яка трапляється приблизно в 14 % АФА-позитивних пацієнтів. Другою у списку є легенева гіпертензія з поширеністю від 1,8 до 3,5 %. Гострий респіраторний дистрес-синдром, легеневий фіброз та дифузний альвеолярний крововилив трапляються значно рідше [1, 3]. Тромбози також зустрічаються у нетипових місцях, таких, як артерії, що кровопостачають внутрішні органи, мозкові венозні синуси, мікротромбози судин нирок, серця, очей та шкіри [4].

Відомо, що оксидативний стрес бере участь у механізмах розвитку АФС [6–8], сприяє синтезу автоантитіл та порушенню функцій імункомпетентних клітин [9]. Він включає 2 основних механізми: порушення окисно-відновних процесів та макромолекулярне ушкодження [8]. Під час окисно-відновних реакцій утворюються активні форми кисню ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , RO_2^{\cdot} , OH_2^{\cdot} , H_2O_2 та ін.), які беруть участь у клітинній проліферації, синтезі простагландинів, передачі сигналів від міжклітинних сигнальних молекул до систем регуляції. Антиоксидантна система попереджує утворення, забезпечує зв'язування і руйнування пероксидних, гідропероксидних та супероксидних радикалів [2, 3].

Поліненасичені жирні кислоти, що входять до складу фосфоліпідів, є субстратом у реакції пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у мембранах легеневих клітин [10–12]. Під час реакції окиснення ушкоджуються зв'язки між протеїнами і ліпідами фосфоліпідних мембран, які, залежно від сили процесу, можуть ушкоджувати і сусідні молекули, внаслідок чого відбувається лізис клітини [10, 11]. При ушкодженні мембранних протеїнів змінюються їх конфігурація, розташування дисульфідних зв'язків, що повністю пригнічує їх регуляторну функцію вибіркової проникності мембрани [13, 14]. Під час вільнорадикального окиснення утворюються не тільки активні форми кисню, але й інші радикали – пероксиди, альдегіди, кетони, епоксиди, спирти та ін., які своєю ковалентною взаємодією з деякими функціонально активними групами протеїнів призводять до полімеризації останніх. При цьому відбуваються руйнування та відокремлення амінокислотних залишків, в основному тих, які мають SH-, SCH₃-групи цистеїну, NH-групи лізину тощо [12, 13, 15]. Нагромадження продуктів вільнорадикального окиснення сприяє деструкції ДНК, ушкодженню лізосомального апарату, гальмуванню гліколізу та окисного фосфорилування, розвитку гострого запального процесу, пригнічує поділ клітини, підвищує

проникність стінки судини і звужує її просвіт за рахунок вивільнення медіаторів запалення, що спричиняє набряк чи ішемію тканин [15, 16]. Порушення функціонування прооксидантно-антиоксидантної системи призводить до посилення вільнорадикального окиснення ліпідів, деструкції клітинної мембрани [13]. Процеси ПОЛ постійно проходять у живому організмі з невеликою інтенсивністю для підтримки балансу фізіологічних систем [11, 13, 14]. При ушкодженні фосфоліпідного шару збільшується проникність мембрани, змінюється осмотичний тиск усередині клітини через втрату протеїну та пригнічення функції ендоплазматичного ретикула [10, 12, 14].

Існує 2 типи ПОЛ: ферментативний та неферментативний. Для першого типу обов'язково мають бути присутні протеїн, іони заліза, пірофосфат і НАДФ-залежна ферментативна система ПОЛ [15]. Циклооксигеназа-2 перетворює лінолеву кислоту в гідропероксид ліпідів, одним з них є малоновий діальдегід, що утворюється під час розщеплення гідропероксиду ліпідів з двома і більше подвійними зв'язками [16]. Неферментативна система ПОЛ є аскорбатозалежною і вимагає наявності іонів заліза [17].

Вільнорадикальні реакції контролює система антиоксидантного захисту, яка бере участь у пригніченні надмірної пероксидації ліпідів та підтримці внутрішньоклітинного балансу продуктів вільнорадикального окиснення в клітині [10, 11]. Антиоксидантна система теж має 2 складові: ферментативну (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатіонредуктаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза та ін.) і неферментативну (вітаміни А, К, Е, С, РР, убіхінон, каротиноїди, біогенні аміни, стеарини, глутатіон, гістидин, церулоплазмін, трансферин тощо) [7, 8]. Регуляція активності ферментативної антиоксидантної системи відбувається залежно від фізіологічних процесів в організмі, віку, балансу гормонів, швидкості метаболізму, присутності інгібіторів чи каталізаторів [13, 14, 16]. Для неферментативної антиоксидантної системи достатньо наявності самого антиоксиданта, який зв'язується з радикалом [16]. Антиоксидантний захист є триступеневою системою, до якої входить антикисневий, антирадикальний та антиперекисний захист. У першій лінії антикисневого захисту беруть участь дихальні ферменти, які є конкурентними за кисень та спеціальні сполуки, що акумулюють надлишковий кисень. До антирадикального захисту входять супероксиддисмутаза, глутатіонредуктаза, вітаміни А, Е, С і церулоплазмін. Вони знешкоджують уже існуючі продукти окиснення завдяки ферментам або шляхом втягнення їх у метаболічний процес для подальшого розпаду та

вилучення з організму. Антиперекисну активність мають глутатіонпероксидаза і каталаза [18, 19].

Доведено, що при АФС в ендотелії порушується синтез нітроген оксиду (NO) [9, 19]. Роль NO в механізмах розвитку АФС зумовлена як прямою, так і опосередкованою дією. Відповідно, коли синтез і біодоступність NO пригнічені, виникають тромбози, вазоконстрикція, гіпертрофія і стеноз судин, запальні процеси [3].

Незважаючи на наявність ряду наукових досліджень, присвячених вивченню ролі оксидативного стресу в механізмах розвитку АФС [6, 9, 18], роль оксидативного стресу та системи NO в механізмах ураження легень при цій патології залишається недостатньо з'ясованою. Зазначене вище свідчить про актуальність пошуку серед модуляторів синтезу NO ефективних засобів корекції ураження легень, що виникає при АФС.

Мета дослідження – вивчити стан прооксидантно-антиоксидантної системи у тканині легень за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому і при використанні модуляторів синтезу нітроген оксиду (L-аргініну та аміногуанідину).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на самках мишей лінії BALB/c, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Експерименти виконували відповідно до принципів біоетики згідно із загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухваленими на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2000) й узгодженими 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.

Моделювали АФС шляхом внутрішньом'язових ін'єкцій кардіоліпіну ("Sigma", США) 4 рази (30 мкг на одну ін'єкцію) з інтервалом 14 діб [20]. Для підвищення ефективності імунної відповіді для першої ін'єкції кардіоліпін емульгували в 75 мкл повного ад'юванту Фрейнда, наступні – проводили з неповним ад'ювантом Фрейнда. Через 2 тижні після останньої ін'єкції кардіоліпіну формувалася антифосфоліпідний синдром. Для підтвердження розвитку АФС проводили реакцію мікропреципітації з кардіоліпіновим антигеном із використанням тест-системи "Антиген кардіоліпіновий, для реакції мікропреципітації" ("Біолік", Україна).

Піддослідних тварин поділили на 5 груп: 1-ша (контрольна) – інтактні тварини; 2-га – миші з АФС; 3-тя – тварини з АФС, яким вводили L-аргініну гідрохлорид ("Sigma", США, 25 мг/кг); 4-та – миші з АФС, яким вводили аміногуанідин ("Хім-

лаборреактив", Україна, 10 мг/кг); 5-та – тварини з АФС, яким вводили комбінацію L-аргініну гідрохлориду й аміногуанідину. L-аргініну гідрохлорид і аміногуанідин вводили внутрішньочеревно 1 раз на день протягом 10 діб з моменту формування АФС [19]. Тваринам контрольної групи вводили ідентичні об'єми 0,9 % натрію хлориду. Тварин виводили з експерименту по 10 мишей із кожної групи за умов використання тіопентал-натрієвого наркозу через 10 діб після формування АФС (внутрішньочеревне введення 1 % розчину з розрахунку 50 мг/кг маси тварини).

Активність супероксиддисмутази (СОД) досліджували за зменшенням швидкості відновлення нітротетразолію синього за присутності НАДН₂ і феназинметасульфату [21]. Активність каталази оцінювали за методикою [22], що ґрунтується на утворенні стійкого забарвленого комплексу жовтого кольору під час реакції пероксиду гідрогену з молібдатом амонію. Рівень відновленого глутатіону (GSH) досліджували за реакцією взаємодії його вільних SH-груп з 5,5'-дитіо-біс-2-нітробензойною кислотою з утворенням тіонітрофенільного аніона, вміст якого прямо пропорційний кількості GSH [23]. Кількість продуктів ПОЛ оцінювали за рівнем гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [24] (метод базується на здатності екстрагованих гептан-ізопропіловою сумішшю ГПЛ інтенсивно поглинати світло при довжині хвилі $\lambda=232$ нм) і ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [25] (визначали при взаємодії з 2-тіобарбітуровою кислотою). Функціонування дихального ланцюга досліджували за активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ) та цитохромоксидази (ЦХО), використовували метод диференційного центрифугування гомогенату тканини легень для виділення мітохондрій. Усі дії виконували на холоді. Активність СДГ визначали за здатністю до відновлення фериціаніду калію до фероціаніду калію сукцинатом під дією СДГ [26]. Метод визначення активності ЦХО базується на здатності останньої окиснювати диметил-пара-фенілендіамін і α -нафтол з утворенням індофенолового синього [27]. Концентрацію розчинних протеїнів визначали за методом Лоурі [28].

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

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Під час вільнорадикального окиснення утворюються ГПЛ, які є дуже нестійкими продуктами, легко вступають у реакцію зі структурними частинками мембрани, ушкоджуючи її. Вони можуть з'єднуватись з компонентами вільних жирних кислот,

фосфоліпідів, стеринів та тригліцеридів, модифікувати склад і розташування поліпептидних зв'язків, змінюючи білкову структуру мембран [10, 15].

У результаті проведених досліджень встановлено збільшення вмісту ГПЛ у тканині легень тварин з АФС на 68 % відносно контрольної групи. Підвищення рівня ГПЛ при АФС свідчить про активацію процесів ПОЛ у тканині легень [3, 19]. Відзначено достовірне зменшення вмісту ГПЛ у тканині легень мишей з АФС, яким проводили корекцію L-аргініном і аміногуанідином, на 28 та 45 % відповідно відносно групи тварин з патологією (рис. 1). При комбінованому застосуванні L-аргініну та аміногуанідину встановлено зниження рівня ГПЛ на 33 % порівняно з показниками групи мишей з АФС.

Встановлено збільшення вмісту ТБК-АП на 49 % у мишей з АФС відносно показників контрольної групи (рис. 2). На тлі введення L-аргініну й аміногуанідину він зменшився на 24 і 50 % відповідно щодо групи тварин з АФС. При комбінованому введенні L-аргініну й аміногуанідину

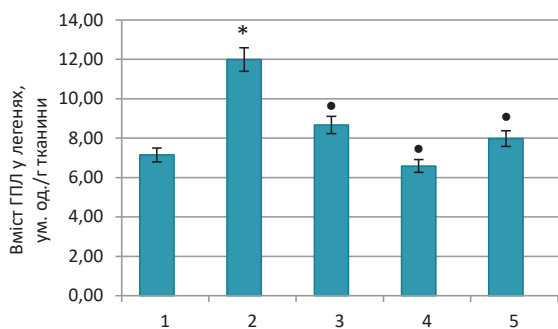


Рис. 1. Вміст гідропероксидів ліпідів у тканині легень мишей лінії BALB/c за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому і при застосуванні L-аргініну та аміногуанідину.

Примітка. Тут і на рисунках 2–7: * – різниця достовірна відносно контрольної групи; • – різниця достовірна щодо групи тварин з АФС ($p < 0,05$); групи тварин: 1 – контрольна, 2 – АФС, 3 – АФС+L-аргінін, 4 – АФС+аміногуанідин, 5 – АФС+L-аргінін+аміногуанідин ($M \pm m$, $n=10$).

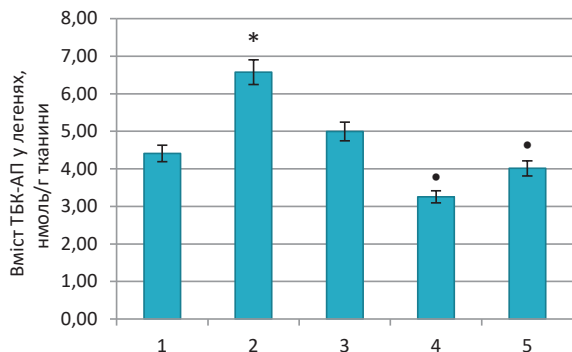


Рис. 2. Вміст ТБК-активних продуктів у тканині легень мишей лінії BALB/c за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому і при застосуванні L-аргініну та аміногуанідину ($M \pm m$, $n=10$).

мишам з АФС встановлено зниження рівня ТБК-АП на 39 % відносно патології. Зменшення вмісту ТБК-активних продуктів у групах тварин з АФС, яким проводили корекцію модуляторами синтезу нітроген оксиду, можна пояснити активацією функціонування антиоксидантної системи на тлі введення вищевказаних речовин, що проявляють антиоксидантні властивості. Активні форми кисню, які утворюються під час вільнорадикального окиснення, є дуже цитотоксичними та деструктивними [18].

Відзначено зниження активності СОД на 41 % у тварин з АФС відносно контрольної групи (рис. 3), що вказує на переважання процесів вільнорадикального окиснення над системою антиоксидантного захисту. В групах мишей, яким вводили аміногуанідин та аміногуанідин у комбінації з L-аргініном, вона підвищилась щодо тварин 2-ї групи, відповідно, на 62 і 47 %. У 3-й групі результати достовірно не змінились відносно групи мишей з АФС.

Встановлено зниження активності каталази на 38 % у тварин з АФС відносно контрольної групи (рис. 4). Відзначено її підвищення на тлі введення аміногуанідину та при комбінованому застосуванні аміногуанідину і L-аргініну на 87 та 61 % відповідно щодо показників групи мишей з АФС.

Відзначено зменшення вмісту GSH на 27 % у тварин з АФС відносно контрольної групи (рис. 5). У групі мишей з АФС, яким корекцію проводили L-аргініном, пул GSH зріс на 34 % порівняно з показниками тварин 2-ї групи. У групах мишей з АФС, яким вводили аміногуанідин та аміногуанідин у комбінації з L-аргініном, не виявлено достовірних змін вмісту GSH щодо тварин з патологією.

Глутатіон є сильним відновником, що легко піддається окисненню. Він відіграє значну роль у процесі зв'язування вільних радикалів та відновленні пероксидів, запобігаючи при цьому

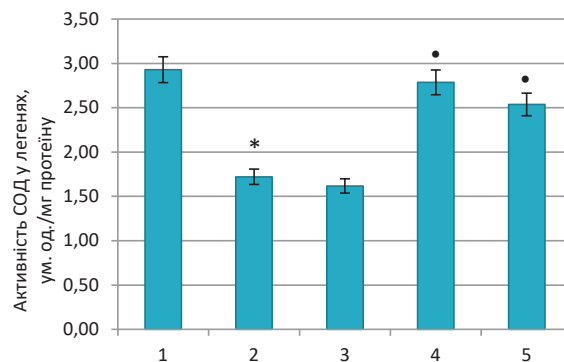


Рис. 3. Активність супероксиддисмутазу у тканині легень мишей лінії BALB/c за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому і при застосуванні L-аргініну та аміногуанідину ($M \pm m$, $n=10$).

прогресуванню вільнорадикального окиснення [16–18]. Представником ТБК-активних продуктів є малоновий діальдегід. При реакції із SH- та SN_3 -білковими групами він пригнічує активність ЦХО, яка бере участь у тканинному диханні [18].

Встановлено, що в легенях тварин з АФС порушується функція дихального ланцюга мітохондрій, що проявляється зниженням активності СДГ і ЦХО, порівняно з контрольною групою, на 22 та 40 % відповідно (рис. 6, 7). При комбінованому використанні L-аргініну та аміногуанідину в мишей з АФС встановлено зростання активності ЦХО на 39 % відносно тварин з АФС без корекції. При застосуванні модуляторів

синтезу нітроген оксиду в мишей з АФС (у 3–5 групах) не спостерігали достовірних змін активності СДГ щодо показників тварин з АФС без корекції.

Отже, при введенні L-аргініну та аміногуанідину за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому в легенях спостерігають позитивну динаміку активації антиоксидантної системи. L-аргінін і аміногуанідин при їх окремо та комбінованому застосуванні підсилюють активність деяких ензимів антиоксидантної системи, електронно-транспортного ланцюга мітохондрій і пригнічують розвиток вільнорадикального окиснення у тканині легень.

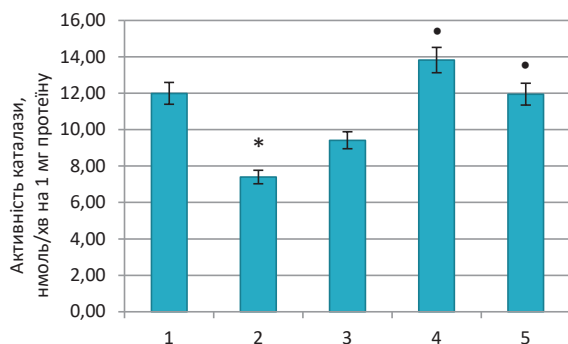


Рис. 4. Активність каталази у тканині легень мишей лінії BALB/c за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому і при застосуванні L-аргініну та аміногуанідину ($M \pm m$, $n=10$).

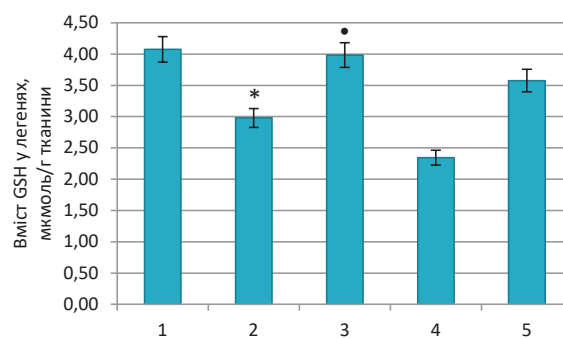


Рис. 5. Вміст відновленого глутатіону в тканині легень мишей лінії BALB/c за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому і при застосуванні L-аргініну та аміногуанідину ($M \pm m$, $n=10$).

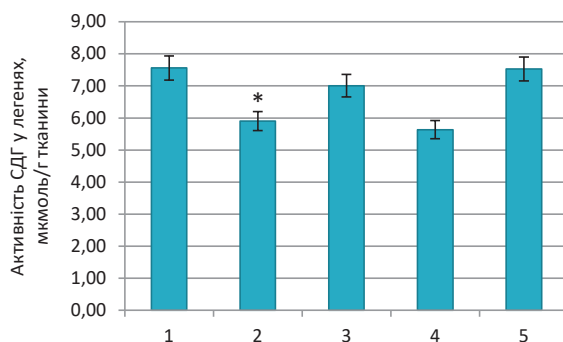


Рис. 6. Активність сукцинатдегідрогенази у тканині легень мишей лінії BALB/c за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому і при застосуванні L-аргініну та аміногуанідину ($M \pm m$, $n=10$).

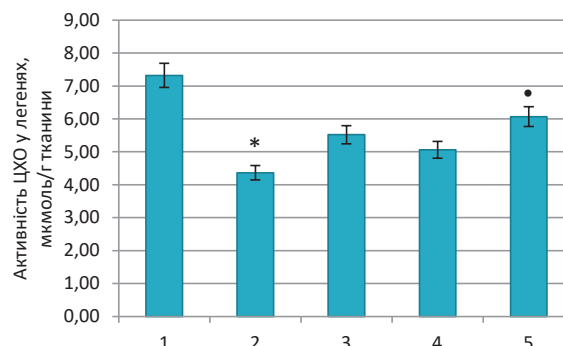


Рис. 7. Активність цитохромоксидази у тканині легень мишей лінії BALB/c за умов експериментального антифосфоліпідного синдрому і при застосуванні L-аргініну та аміногуанідину ($M \pm m$, $n=10$).

ВИСНОВКИ. 1. При експериментальному антифосфоліпідному синдромі в легенях мишей лінії BALB/c активуються процеси вільнорадикального окиснення, що призводить до надлишку токсичних і мембранодеструктивних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у клітинах, які порушують рівновагу й активність компонентів антиоксидантної системи та дихального ланцюга мітохондрій.

2. Комбіноване застосування L-аргініну й аміногуанідину як засобів корекції при антифосфоліпідному синдромі сприяє зменшенню проявів оксидативного стресу в легенях, зокрема зниженню рівня пероксидного окиснення ліпідів, відновленню активності та вмісту компонентів антиоксидантної системи, що супроводжується відновленням функціонального стану електронно-транспортного ланцюга мітохондрій.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Difficulties in the treatment of recurring diffuse alveolar hemorrhage accompanying primary antiphospholipid syndrome: a case report and literature review / J. Panowiak, A. Siemińska, M. Porzezińska [et al.] // *Advances in Respiratory Medicine*. – 2018. – **86**. – P. 126–130.
2. Association between plasmatic oxidative stress and thrombosis in primary antiphospholipid syndrome / C. O. Vaz, B. M. Mazetto, P. E. Vasconcelos [et al.] // *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* – 2021. – **52**. – P. 730–737. <https://doi.org/10.1007/s11239-021-02509-0>
3. Indexes of nitric oxide system in experimental antiphospholipid syndrome / O. Z. Yaremchuk, K. A. Posokhova, I. P. Kuzmak [et al.] // *Ukrainian Biochemical Journal*. – 2020. – **92**, No. 1. – P. 75–83. ISSN 2409-4943
4. Knight J. S. Mechanisms of immunothrombosis and vasculopathy in antiphospholipid syndrome / J. S. Knight, Y. Kanthi // *Seminars in Immunopathology*. – 2022. – **44**. – P. 347–362.
5. Chaturvedi S. Complement in the pathophysiology of the antiphospholipid syndrome / S. Chaturvedi, R. A. Brodsky, K. R. McCrae // *Front. Immunol.* – **10**. – P. 449. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00449
6. Lung disease in antiphospholipid syndrome / G. Maioli, G. Calabrese, F. Capsoni [et al.] // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* – 2019. – **40** (2). – P. 278–294. DOI: 10.1055/s-0039-1683994.
7. Forman H. J. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy / H. J. Forman, H. Zhang // *Nature Reviews Drug Discovery*. – 2021. – **20**. – P. 689–709.
8. Delgado-Roche L. Oxidative stress as key player in severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection / L. Delgado-Roche, F. Mesta // *Archives of Medical Research*. – 2020. – **51**, Issue 5. – P. 384–387
9. Nocella C. Oxidative Stress in the Pathogenesis of the atherothrombotic process: Implications for the atherothrombotic process / C. Nocella, S. Bartimoccia, V. Cammisotto [et al.] // *Antioxidants*. – 2021. – **10** (11). – P. 1790. <https://doi.org/10.3390/antiox10111790>
10. Маменко Т. П. Пероксидне окиснення ліпідів клітинних мембран у формуванні та регуляції захисних реакцій рослин / Т. П. Маменко, С. Я. Коць // *Укр. ботан. журн.* – 2020. – № 77 (4). – С. 331–343.
11. Інтенсивність вільнорадикальних процесів у плазмі крові щурів за впливу гістаміну і кверцетину / Н. Гарасим, М. Вербещук, Н. Боднарчук [та ін.] // *Вісн. Львів. ун-ту. Серія біологічна*. – 2020. – Вип. 82. – С. 36–52.
12. ABlair I. Lipid hydroperoxide-mediated DNA damage / I. ABlair // *Experimental Gerontology*. – **36**. – 2001. – P. 1473–1481. [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(01\)00133-4](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(01)00133-4)
13. Цехмістренко С. І. Вплив різних форм селену на показники пероксидного окиснення ліпідів у нирках перепелів за кадмієвого навантаження / С. І. Цехмістренко, О. С. Цехмістренко, В. М. Поліщук // *Наук. вісн. ветеринарної медицини*. – 2010. – Вип. 6 (79). – С. 142–145.
14. Тяжка О. В. Стан перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи у дітей різного віку / О. В. Тяжка, Я. М. Загородня // *Перинатология и педиатрия*. – 2016. – № 2 (66). – С. 101–105.
15. Говоруха О. Ю. Значення взаємодії перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантних систем в розвитку патологічних процесів / О. Ю. Говоруха, О. Ю. Шнайдерман // *Експерим. і клініч. медицина*. – 2016. – № 4 (73). – С. 10–14.
16. Губерук В. О. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантна система захисту організму / В. О. Губерук // *Наук. вісн. ЛНУВМБТ імені С. З. Гжицького*. – 2008. – **10**, № 3 (38), ч. 1. – С. 51–55.
17. Антонова О. І. Ефекти комплексної дії нестачі, надлишку мелатоніну та підвищеної пероксидації на печінку / О. І. Антонова, Б. О. Луценко, А. В. Шаповал // *Південноукр. мед. наук. журн.* – 2014. – № 9. – С. 58–61.
18. Яремчук О. З. Вплив L-аргініну та аміногуанідину на розвиток оксидативного стресу у мозку при експериментальному антифосфоліпідному синдромі / О. З. Яремчук, К. А. Посохова, М. І. Куліцька // *Sciences of Europe*. – 2020. – **3**, No. 48. – P. 20–24.
19. Посохова К. А. Акушерський антифосфоліпідний синдром і система оксиду азоту (огляд літератури і результати власних досліджень) / К. А. Посохова, І. Ю. Сак, С. Р. Сампара // *Мед. хімія*. – 2014. – **16**, № 1. – С. 73–80.
20. Зайченко Х. В. Морфологічний стан матки та плаценти при експериментальному моделюванні гестаційного антифосфоліпідного синдрому на мишах / Х. В. Зайченко, Ю. Б. Лар'яновська, Т. В. Дєєва // *Укр. мед. альм.* – 2011. – № 14 (4). – С. 136–141.
21. 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.
22. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // *Лаб. дело*. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
23. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – **82**. – P. 70–77.
24. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // *Лаб. дело*. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
25. 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.
26. 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.
27. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Р. С. Кривченкова // *Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича*. – М.: Медицина, 1977. – С. 47–49.
28. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. M. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**, No. 1. – P. 265–275.

REFERENCES

1. Janowiak P., Siemińska A., Porzezińska M., Smoleńska Z., Suchanek H., Jassem E. (2018). Difficulties in the treatment of recurring diffuse alveolar hemorrhage accompanying primary antiphospholipid syndrome: a case report and literature review. *Advances in Respiratory Medicine*, 86, 126-130.
2. Vaz, C.O., Mazetto, B.M., Vasconcelos P.E.N.S., Bastos L.B., Aparecida Cursino, M., Quintanilha, J.C.F., et al. (2021). Association between plasmatic oxidative stress and thrombosis in primary antiphospholipid syndrome. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 52, 730-737. <https://doi.org/10.1007/s11239-021-02509-0>
3. Yaremchuk, O.Z., Posokhova, K.A., Kuzmak, I.P., Kulitska, M.I., Klisch, I.M., Korda, M.M. (2020). Indexes of nitric oxide system in experimental antiphospholipid syndrome. *Ukrainian Biochemical Journal*, 92 (1), 75-83. ISSN 2409-4943
4. Knight, J.S., Kanthi, Y. (2022). Mechanisms of immunothrombosis and vasculopathy in antiphospholipid syndrome. *Seminars in Immunopathology*, 44, 347-362.
5. Chaturvedi, S., Brodsky, R.A., McCrae, K.R. (2019). Complement in the pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. *Front. Immunol.*, 10, 449. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00449
6. Maioli G., Calabrese G., Capsoni F., Gerosa M., Meroni P.L., Chighizola C.B. (2019). Lung Disease in Antiphospholipid Syndrome. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 40 (2), 278-294. DOI: 10.1055/s-0039-1683994.
7. Forman, H.J., & Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20, 689-709.
8. Delgado-Roche, L., Mesta, F. (2020). Oxidative stress as key player in severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection. *Archives of Medical Research*, 51 (5), 384-387.
9. Nocella, C., Bartimoccia, S., Cammisotto, V., D'Amico A., Pastori, D., Frati, G., Sciarretta, S., Rosa, P., Felici, C., Riggio, O., Calogero, A., Carnevale, R. (2021). Oxidative stress in the pathogenesis of antiphospholipid syndrome: Implications for the atherothrombotic process. *Antioxidants*, 10 (11), 1790. <https://doi.org/10.3390/antiox10111790>
10. Mamenko, T.P., Kots, S.Ya. (2020). Peroxide oxidation of lipids of cell membranes in the formation and regulation of protective reactions of plants. *Ukrainian Botanical Journal*, 77 (4), 331-343. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj77.04.331> [in Ukrainian].
11. Garasym, N., Verbeshchuk, M., Bodnarchuk, N., Galan, M., Sanagurskyi, D. (2020). Intensity of free radical processes in blood plasma of rats under the influence of histamine and quercetin. *Bulletin of Lviv University. Biological Series*, 82, 36-52. DOI: <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2020.82.03> [in Ukrainian].
12. ABlair, I. (2001). Lipid hydroperoxide-mediated DNA damage. *Experimental Gerontology*, 36, 1473-1481. [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(01\)00133-4](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(01)00133-4)
13. Tsekhmistrenko, S.I., Tsekhmistrenko, O.S., Polishchuk, V.M. (2010). The effect of different forms of selenium on indicators of lipid peroxidation in the kidneys of quail under cadmium load. *Scientific Bulletin of Veterinary Medicine*, 6 (79), 142-145 [in Ukrainian].
14. Tyazhka, O.V., Zagorodnya, Y.M. (2016). State of lipid peroxidation and antioxidant system in children of different ages. *Perinatology and Pediatrics*, 2 (66), 101-105. DOI 10.15574/PP.2016.66.101 [in Ukrainian].
15. Govorukha, O.Yu., Shnaiderman, O.Yu. (2016). The importance of the interaction of lipid peroxidation and antioxidant systems in the development of pathological processes. *Experimental and Clinical Medicine*, 4 (73), 10-14 [in Ukrainian].
16. Guberuk, V.O. (2008). Peroxidation of lipids and the antioxidant system of the body's protection. *Scientific Bulletin of Gzhitskyi*, 10, 3 (38) Part 1, 51-55 [in Ukrainian].
17. Antonova, O.I., Lutsenko, B.O., Shapoval, A.V. (2014). Effects of the complex action of lack, excess of melatonin and increased peroxidation on the liver. *South Ukrainian Medical Scientific Journal*, 9, 58-61 [in Ukrainian].
18. Yaremchuk, O.Z., Posohova, K.A., Kulytska, M.I. (2020). Influence of L-arginine and aminoguanidine on the development of oxidative stress in the brain in experimental antiphospholipid syndrome. *Sciences of Europe*, 3 (48), 20-24 [in Ukrainian].
19. Posohova, K.A., Sak, I.U., Sampara, S.R. (2014). Obstetric antiphospholipid syndrome and the nitric oxide system (literature review and results of own research). *Medicinal Chemistry*, 16 (1), 73-80 [in Ukrainian].
20. Zaychenko, H.V., Laryanovska, Yu.B., Deyeva, T.V. (2011). The morphological state of the uterus and placenta during experimental modeling of gestational antiphospholipid syndrome in mice. *Ukrainian Medical Almanac*, 14 (4), 136-141 [in Ukrainian].
21. Chevari, S., Chaba, I., Sekey, I. (1985). The role of superoxide dismutase in oxidative processes of the cell and the method of its determination in biological materials. *Lab. Case*, 11, 678-681 [in Russian].
22. Korolyuk, M.A., Ivanova, L.I., Mayorova, I.G. (1988). Method for determining catalase activity. *Lab. Case*, 1, 16-19 [in Russian].
23. Ellman, G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70-77 [in Russian].
24. Gavrilov, V.B., Myshkorudnaya, M.I. (1983). Spectrophotometric determination of lipid hydroperoxide content in blood plasma. *Lab. Case*, 3, 33-35 [in Russian].
25. Andreeva, L.I., Kozhemyakin, A.A. (1988). Kishkun modification of the method for determining lipid peroxides in a test with thiobarbituric acid. *Lab. Case*, 11, 41-43 [in Russian].
26. Eshchenko, H.G. Volsky, N.D. (1982). Determination of the amount of succinic acid and the activity of succinate dehydrogenase. *Methods of biochemical research. L.: Izd-vo Leningrad. University*, 207-210 [in Russian].
27. Kryvchenkova, R.S. (1977). *Determination of cytochrome oxidase activity in mitochondrial suspension. Modern methods in biochemistry*. Orehovicha, V.N. (Ed.). Moscow: Meditsina [in Russian].
28. 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 [in Russian].

THE EFFECT OF L-ARGININE AND AMINOGUANIDINE ON THE DEVELOPMENT OF OXIDATIVE STRESS IN THE LUNGS IN EXPERIMENTAL ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

Summary

Introduction. Antiphospholipid syndrome is an autoimmune disease accompanied by the formation of antiphospholipid antibodies which entering into blood coagulation reactions, cause thrombosis of veins and arteries, as well as contribute to miscarriage. At the same time, the processes of free radical oxidation are activated, which is a consequence of ischemia, the antioxidant system is depleted, which deepens lung damage.

The aim of the study – to investigate the state of the prooxidant-antioxidant system in the lung tissue with experimental APS and when using modulators of nitric oxide synthesis (L-arginine and aminoguanidine).

Research Methods. Modeling of the antiphospholipid syndrome was performed on female BALB/c mice. The level of oxidation products and the activity of antioxidant enzymes were determined under APS and with the use of L-arginine and aminoguanidine in the lung tissue.

Results and Discussion. Under conditions of experimental APS in the lungs of mice, an increase in the content of lipid hydroperoxides and TBA-active products, inhibition of the activity of superoxide dismutase and catalase, depletion pool of the reduced glutathione, and impaired function of respiratory chain enzymes – succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase. Positive dynamics was noted in restoring the activity of the antioxidant system and blocking the destructive action of free radicals on the lung tissue with the introduction of L-arginine and aminoguanidine and their combination.

Conclusions. Thrombosis and ischemia that occur during APS disrupt the balance of the prooxidant-antioxidant system, increasing the formation of reactive oxygen species and suppressing protective functions. The combined use of L-arginine and aminoguanidine in antiphospholipid syndrome helps to reduce the manifestations of oxidative stress in the lungs, in particular, to reduce the level of lipid peroxidation, restore the activity and content of the components of the antioxidant system, which is accompanied by the restoration of the activity of respiratory chain enzymes.

KEY WORDS: antiphospholipid syndrome; oxidative stress; L-arginine; aminoguanidine.

Отримано 17.11.22

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