

## ЗАСТОСУВАННЯ L-АРГІНІНУ ТА АМІНОГУАНІДИНУ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПЕРИТОНІТІ

*Попередник синтезу оксиду азоту – L-аргінін при гострому перитоніті (внутрішньочеревне введення нелінійним статевозрілим щурам-самцям по 25 мг/кг маси за 30 хв до і через 12, 24 та 36 год після моделювання патології) сприяв зростанню вмісту нітрит-аніона на тлі пригнічення процесів ліпопероксидації, активації мітохондріальних та антиоксидантних ензимів у печінці, зниження рівня показників ендогенної інтоксикації. Застосування при експериментальному перитоніті селективного інгібітора індукцибельної синтази оксиду азоту – аміногуанідину (внутрішньочеревно по 10 мг/кг маси, схема введення аналогічна) супроводжувалось прогресуванням ураження печінки на тлі гальмування синтезу оксиду азоту.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гострий перитоніт, печінка, L-аргінін, аміногуанідин.

ВСТУП. Упродовж останніх років перитоніт став "лідером" у структурі ургентної хірургічної патології органів черевної порожнини. Однак, незважаючи на вдосконалення способів оперативного лікування, сучасні методи фармакотерапії та вагомі наукові досягнення, летальність при даному захворюванні не має тенденції до зниження і, за даними різних авторів, коливається від 15 до 60 %, а при післяопераційному перитоніті сягає 80–90 % і більше [10, 13, 14, 18]. За сучасними уявленнями, важливе значення в патогенезі перитоніту мають порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги [11]. Разом із тим, зростає інтерес дослідників та клініцистів до ролі біорегуляторної системи оксиду азоту (NO) як одного з головних чинників розвитку ускладнень даного патологічного процесу [7]. Одним з актуальних завдань є встановлення особливостей патогенезу ураження печінки при гострому перитоніті (ГП), зокрема ролі системи L-аргінін–NO в розвитку цієї патології, що сприятиме пошуку ефективних методів її профілактики та лікування.

Метою даного дослідження було з'ясувати особливості впливу попередника синтезу NO – L-аргінину (LA) та селективного інгібітора індукцибельної NO-синтази (iNOS) – аміногуанідину (AG) на стан печінки при гострому експериментальному перитоніті.

© В. В. Черняшова, 2015.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на нелінійних статевозрілих щурах-самцях, яких утримували в стандартних умовах віварію. Перед моделюванням піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні тварини; 2-га – щури, в яких моделювали гострий перитоніт шляхом внутрішньочеревного введення 5 % калової суміші [16]; 3-тя – тварини, яким внутрішньочеревно вводили L-аргінін ("Sigma", США, 25 мг/кг маси) за 30 хв до і через 12, 24 та 36 год після моделювання перитоніту; 4-та – щури, яким на тлі перитоніту за тією ж схемою внутрішньочеревно вводили аміногуанідин (ООО "Хімлабораторреактив", Київ, по 10 мг/кг маси тіла). Біохімічні показники досліджували в контрольній та дослідних групах тварин через 48 год після відтворення ГП. У гомогенатах печінки визначали вміст гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [4], ТБК-активних продуктів (ТБП) [1], відновленого глутатіону (ВГ) [19], кількість стабільного метаболіту оксиду азоту – нітрит-аніона ( $\text{NO}_2^-$ ) [17], активність супероксиддисмутази (СОД) [15], каталази (КТ) [9], сукцинатдегідрогенази (СДГ) [6], цитохромоксидази (ЦХО) [8]. У сироватці крові визначали рівень сечовини, використовуючи стандартний набір реактивів (ООО НПП "Філісит-діагностика", Україна), вміст молекул середньої маси ( $\text{MCM}_1$ ,  $\text{MCM}_2$ ) [12].

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського державного медичного універ-

ситету імені І. Я. Горбачевського в програмному пакеті Statsoft STATISTICA.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У печінці тварин через 48 год після моделювання ГП спостерігали зниження вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту –  $\text{NO}_2^-$  на 39 % (табл. 1), що супроводжувалось накопиченням продуктів пероксидації мембранних ліпідів. Так, вміст ГПЛ і ТБП у гомогенатах печінки зростав, відповідно, на 75 та 83 % (табл. 1). Одночасно в печінці щурів відбувалось достовірне зниження активності ферментів антиоксидантної системи (АОС): СОД – на 68 % та КТ – на 49 %, при цьому ступінь зниження активності ключових ферментів АОС відображав тяжкість перебігу захворювання [13]. Відмічено також зменшення вмісту ВГ на 41 %. Слід зазначити, що прогресування процесів пероксидного окиснення ліпідів у печінці на тлі зниження активності ферментів АОС свідчить про те, що розвиток запального процесу в черевній порожнині супроводжується ураженням даного органа та є одним з основних патогенетичних механізмів розвитку печінкової недостатності при ГП [2, 14]. Вказані зміни супроводжувались зменшенням активності ферментів мітохондрій у печінці: СДГ – на 36 %, ЦХО – на 32 % (табл. 1).

При ГП відмічено зростання вмісту сечовини в сироватці крові (на 34 %) та молекул середньої маси ( $\text{MCM}_1$  – на 76 %,  $\text{MCM}_2$  – на 68 %) (табл. 2). Відомо, що рівень молекул середньої маси використовують як найбільш поширений маркер інтоксикації. Остання на певних етапах розвитку ГП стає провідною ланкою його патогенезу,

визначаючи ступінь тяжкості перебігу даного захворювання, та одночасно свідчить про недостатність антиоксидантної функції печінки за цих умов [3, 5]. Смертність тварин у 2-й групі становила 25 %.

Введення L-аргініну тваринам з ГП призводило до збільшення в гомогенатах печінки вмісту  $\text{NO}_2^-$  на 73 %. Одночасно спостерігали зниження активності процесів ліпопероксидації, що характеризувалось зменшенням вмісту ГПЛ на 21 % та ТБП на 29 % (табл. 1). Поряд із даними змінами в органі зростали активність ферментів АОС (СОД – на 165 %, КТ – на 110 %) та вміст ВГ (на 71 %).

На тлі введення LA в печінці відмічено також зростання активності мітохондріальних ферментів СДГ та ЦХО на 86 % (табл. 1). Вказані зміни супроводжувались збільшенням вмісту сечовини в сироватці крові на 29 % та зниженням кількості  $\text{MCM}_1$  (на 38 %) і  $\text{MCM}_2$  (на 54 %) (табл. 2), що свідчило про зменшення рівня ендогенної інтоксикації та про поліпшення знешкоджувальної функції печінки.

Встановлено, що введення селективного інгібітора iNOS – аміногуанідину супроводжувалось зниженням виживання піддослідних тварин на 25 % порівняно з цим показником при ГП. У тканині печінки щурів 3-ї групи мало місце зростання продуктів пероксидної деградації ліпідних компонентів мембран. Так, вміст ГПЛ збільшувався на 18 %, ТБП – на 14 %. Активність ферментів АОС продовжувала знижуватись: СОД – на 24 %, КТ – на 28 %, вміст ВГ зменшувався на 23 % порівняно з групою тварин, в яких моделювали ГП. Активність СДГ та ЦХО у

Таблиця 1 – Показники стану печінки щурів при гострому перитоніті та введенні L-аргініну й аміногуанідину ( $\text{M} \pm \text{m}$ )

Показник	Група тварин			
	контроль (інтактні)	ГП	ГП+LA	ГП+AG
КТ, кат/кг	8,23±0,11	4,22±0,23*	8,85±0,36**	3,04±0,09**
СОД, ум. од./кг	2,36±0,06	0,75±0,06*	1,99±0,14**	0,57±0,03**
ВГ, ммоль/кг	4,28±0,05	2,52±0,12*	4,32±0,04**	1,95±0,05**
ЦХО, ммоль/(кг·хв)	6,93±0,12	4,70±0,16*	8,74±0,09**	3,68±0,08**
СДГ, ммоль/(кг·хв)	5,46±0,04	3,50±0,01*	6,50±0,03**	2,63±0,04**
$\text{NO}_2^-$ , мкмоль/кг	2,11±0,03	1,29±0,05*	2,23±0,04**	0,89±0,04**
ГПЛ, $10^3$ ум. од./кг	4,54±0,13	7,96±0,28*	6,33±0,16**	9,40±0,25**
ТБП, ммоль/кг	4,47±0,17	8,21±0,13*	5,81±0,09*	9,39±0,10**

Примітка. Тут і в наступній таблиці різниця достовірна: \* – відносно контролю; \*\* – відносно ГП.

Таблиця 2 – Зміни показників сироватки крові щурів при гострому перитоніті та введенні L-аргініну й аміногуанідину ( $\text{M} \pm \text{m}$ )

Показник	Група тварин			
	контроль (інтактні)	ГП	ГП+LA	ГП+AG
Сечовина, ммоль/л	5,83±0,19	7,82±0,13*	10,07±0,13**	10,63±0,11**
$\text{MCM}_1$ , ум. од.	0,57±0,01	1,00±0,01*	0,62±0,01**	1,16±0,02**
$\text{MCM}_2$ , ум. од.	0,34±0,01	0,58±0,02*	0,27±0,02**	0,65±0,00**

гомогенатах печінки знижувалась на 25 і 22 % порівняно з показниками щурів з ГП. Ці зміни поєднувались із зростанням вмісту сечовини (на 36 %) та молекул середньої маси  $MCM_1$  і  $MCM_2$  (на 15 та 12 %) у сироватці крові тварин порівняно з групою контрольної патології, що свідчило про підвищення рівня ендогенної інтоксикації (табл. 2). З огляду на те, що під впливом AG у печінці щурів відмічали подальше зменшення рівня  $NO_2^-$  на 31 % (табл. 1), можна припустити, що прогресування патологічного процесу в цій серії дослідів пов'язане з порушенням процесів синтезу оксиду азоту.

**ВИСНОВКИ.** 1. Ураження печінки піддослідних тварин при розвитку гострого експериментального перитоніту (48 год) проявляється активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів, зни-

женням активності антиоксидантних та мітохондріальних ферментів, зростанням показників ендогенної інтоксикації на тлі зменшення вмісту нітрит-аніона в органі.

2. L-аргінін позитивно впливає на стан печінки тварин при гострому перитоніті, що супроводжується відновленням балансу в системі прооксиданти/антиоксиданти, активацією мітохондріальних ферментів, зниженням рівня ендогенної інтоксикації на тлі зростання вмісту нітрит-аніона.

3. Аміногуанідин при гострому експериментальному перитоніті сприяє прогресуванню ураження печінки, що проявляється посиленням інтенсивності процесів ліпопероксидації, зниженням активності антиоксидантних і мітохондріальних ферментів, зростанням рівня ендогенної інтоксикації на тлі гальмування синтезу оксиду азоту.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. 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.

2. Бродовський С. П. Показники пероксидного окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантного захисту в печінці щурів за експериментального перитоніту / С. П. Бродовський // Буковин. мед. вісн. – 2007. – 11, № 1. – С. 100–101.

3. Войтів Я. Ю. Зміни деяких показників ендогенної інтоксикації при різних ступенях порушень функції кишок при перитоніті / Я. Ю. Войтів, В. С. Улянівський, І. В. Молокус // Молодий вчений. – 2015. – № 1 (16). – С. 146–148.

4. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.

5. Діагностичні маркери синдрому ендогенної інтоксикації при поширеному перитоніті / В. В. Бойко, О. М. Шевченко, В. М. Лихман [та ін.] // Харківська хірургічна школа. – 2014. – № 2 (65). – С. 92–95.

6. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 207–212.

7. Косинец В. А. Влияние новой патогенетически обоснованной схемы комплексного лечения распространенного гнойного перитонита на течение воспалительного процесса / В. А. Косинец // Хирургия. – 2012. – № 8. – С. 69–73.

8. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Р. С. Крив-

ченкова // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.

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

10. Первый опыт использования оксида азота и озона в комплексном лечении распространенного перитонита / А. Д. Лелянов, К. В. Бейнарович, М. А. Челомбитько [и др.] // Мед. альм. – 2013. – № 3 (27). – С. 112–113.

11. Роль нитроксидергической системы в регуляции окислительного стресса в печени у крыс с экспериментальным перитонитом / Д. В. Срубиллин, Д. А. Еникеев, В. А. Мышкин [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10. – С. 724–731.

12. Среднемолекулярные пептиды спинномозговой жидкости при гнойных менингитах / В. В. Оськина, К. И. Чекалина, Н. И. Габриэлян [и др.] // Лаб. дело. – 1987. – № 2. – С. 23–25.

13. Суковатых Б. С. Механизмы развития распространенного перитонита / Б. С. Суковатых, Ю. Ю. Блинков, О. Г. Фролова // Вестн. эксперим. и клинич. хирургии. – 2012. – 5, № 2. – С. 470–478.

14. Сучасні підходи до лікування хворих на післяопераційний перитоніт / М. І. Шеремет, Я. В. Гирла, В. П. Дорош [та ін.] // Клініч. анатомія та оператив. хірургія. – 2014. – 13, № 3. – С. 35–36.

15. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–684.

16. Effect of aminoguanidine on plasma nitric oxide by-product blood flow during chronic peritoneal sepsis / K. J. Alden, S. J. Motew, A. C. Sharma [et al.] // Shock. – 1998. – 9, № 4. – P. 289–295.

17. Analysis of nitrate, nitrite and [<sup>15</sup>N] nitrate in biological fluids / L. C. Green, A. W. David, J. Glogovski [et al.] // Analytical biochemistry. – 1982. – 126, № 1. – P. 131–138.

18. Dever J. B. Review article: spontaneous bacterial peritonitis – bacteriology, diagnosis, treatment, risk factors

and prevention / J. B. Dever, M. Y. Sheikh // Alimentary Pharmacology and Therapeutics. – 2015. – № 41. – P. 1116–1131.

19. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Archives of biochemistry and biophysics. – 1959. – № 82. – P. 70–77.

**В. В. Черняшова**

ТЕРНОПОЛЬСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

## **ПРИМЕНЕНИЕ L-АРГИНИНА И АМИНОГУАНИДИНА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ**

### **Резюме**

*Предшественник синтеза оксида азота – L-аргинин при остром перитоните (внутрибрюшное введение нелинейным половозрелым крысам-самцам по 25 мг/кг массы за 30 мин до и через 12, 24 и 36 ч после моделирования патологии) способствовал росту содержания нитрит-аниона на фоне подавления процессов липопероксидации, активации митохондриальных и антиоксидантных ферментов в печени, снижения уровня показателей эндогенной интоксикации. Применение при экспериментальном перитоните селективного ингибитора индуцибельной синтазы оксида азота – аминогуанидина (внутрибрюшно по 10 мг/кг массы, схема введения аналогичная) сопровождалось прогрессированием поражения печени на фоне торможения синтеза оксида азота.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** острый перитонит, печень, L-аргинин, аминогуанидин.

**V. V. Chernyashova**

I. YA. HORBACHESKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

## **APPLICATION OF L-ARGININE AND AMINOGUANIDINE FOR CORRECTION OF LIVER AT ACUTE EXPERIMENTAL PERITONITIS**

### **Summary**

*The precursor of the synthesis of nitric oxide – L-arginine at acute peritonitis (intrabdominally administration nonlinear mature male rats, 25 mg/kg, 30 minutes before and 12, 24 and 36 h after modeling pathology) promoted of increasing of nitrite anion content to inhibition of lipid peroxidation background processes, activating the mitochondrial and antioxidant enzymes in the liver, reducing indices of endogenous intoxication. Application of experimental peritonitis selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase – aminoguanidine (intrabdominally, 10 mg/kg, the introduction of a similar scheme) accompanied the progression of liver disease on the background of inhibition of the synthesis of nitric oxide.*

**KEY WORDS:** acute peritonitis, liver, L-arginine, aminoguanidine.

Отримано 26.05.15

**Адреса для листування:** В. В. Черняшова, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.