

**ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ АМІНОКИСЛОТ L-ОРНІТИНУ ТА L-АРГІНІНУ  
НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК У ЩУРІВ В УМОВАХ ГОСТРОГО  
ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ**

*В умовах гострої інтоксикації тетрахлорметаном у дозі 2 мл·кг<sup>-1</sup> маси тіла у піддослідних тварин відмічають розвиток ниркової недостатності, що проявляється зниженням добового діурезу, швидкості клубочкової фільтрації, підвищенням вмісту креатиніну як у сироватці крові, так і в сечі та зменшенням рівня його екскреції. Застосування з корегувальною метою L-орнітину (1000 мг·кг<sup>-1</sup>) та L-аргініну (500 мг·кг<sup>-1</sup>) супроводжується вираженим позитивним впливом на функціональний стан нирок, найбільшу ефективність якого спостерігають при поєднаному використанні.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тетрахлорметан, печінка, нирки, L-орнітин, L-аргінін.

ВСТУП. Незважаючи на значні успіхи в галузі сучасної гепатології, проблема лікування токсичних уражень печінки є складною і, в ряді випадків, далекою від ефективного вирішення. У патогенезі інтоксикацій першочергово розвивається патологія гепатобіліарної системи, оскільки печінка є центральним органом, який забезпечує процеси детоксикації організму, а нирки – виділення ендотоксинів та екзогенних токсинів [12]. Зменшення виділення токсичних метаболітів, пов'язане з ураженням паренхіми нирки, призводить до їх затримки в організмі й поглиблення інтоксикації, що сприяє розвитку гострої або хронічної печінково-ниркової недостатності. Клінічні прояви поєднаного токсичного ураження печінки й нирок зустрічаються більше ніж у 30 % випадків гострих отруєнь [11, 12]. Зниження ефективності механізмів, які забезпечують водно-сольовий гомеостаз в умовах гострого токсичного гепатиту, залежить від тяжкості патологічних змін паренхіми печінки. Тому зміни функціонального стану нирок є супутнім і одним з ранніх діагностичних критеріїв функціональної недостатності печінки.

Перспективним напрямком корекції токсичного ураження печінки вважають використання препаратів на основі природних амінокислот, які, включаючись у процеси метаболізму, мають позитивний вплив на відновлення

© О. М. Креховська-Лепявко, А. А. Гудима, В. Є. Городецький, 2013.

функцій печінки. Ефективність застосування L-орнітину та L-аргініну при патології печінки показано у ряді праць [8, 13]. Однак функціональні відхилення нирок на тлі інтоксикації тетрахлорметаном вивчено недостатньо, немає даних про ефективність поєднаного використання вищевказаних біологічно активних субстанцій.

Метою даної роботи було оцінити вплив L-аргініну та L-орнітину на показники функціонального стану нирок в умовах гострої інтоксикації тетрахлорметаном.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Терапевтичний вплив амінокислот L-орнітину та L-аргініну на функціональний стан нирок при токсичному гепатиті вивчено на 40 нелінійних білих щурах-самцях масою 180–220 г, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні. Тварин поділили на п'ять груп: 1-шу групу склали контрольні тварини, в яких імітували отруєння тетрахлорметаном та лікувальні впливи шляхом еквівалентного введення фізіологічного розчину хлориду натрію; 2-гу – щури, в яких моделювали гострий токсичний гепатит шляхом одноразового внутрішньочеревного введення 50 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 2 мл·кг<sup>-1</sup> маси тіла тварини [4] та імітували лікувальний вплив шляхом еквівалентного введення фізіологічного розчину; в 3-й групі через добу після моделювання гепатиту протягом 7-ми днів внут-

рішньочередно проводили корекцію розчином L-орнітину в дозі 1000 мг·кг<sup>-1</sup> [9]; у 4-й – розчином L-аргініну в дозі 500 мг·кг<sup>-1</sup> [10]; у 5-й – комбінували обидва препарати.

На 8-му добу від початку корекції досліджували функціональний стан нирок методом водного навантаження [3]. Після забору сечі під тіопентало-натрієвим знеболюванням, відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), проводили забій щурів методом тотального кровопускання із серця і виконували біохімічні дослідження сироватки крові: визначали концентрацію іонів натрію, калію та креатиніну. Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи t-критерій Стюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Провідним порушенням недостатності функції нирок є зниження добового діурезу та клубочкової фільтрації з розвитком ретенційної азотемії, що характеризується підвищенням концентрації в сироватці крові креатиніну і зменшенням рівня його екскреції (табл.), що лежить в основі розвитку синдрому інтоксикації [1]. Так, згідно з результатами проведених досліджень, на 8-му добу після введення піддослідним щурам тетрахлорметану добовий діурез знизився стосовно контрольної групи на 40,37 % (p<0,001),

швидкість клубочкової фільтрації – на 54,51 % (p<0,001), а вміст креатиніну в сироватці крові збільшився в 1,5 раза (p<0,001). При цьому рівень креатиніну в сечі зріс на 13,77 % (p<0,001), а екскреція креатиніну знизилась в 1,5 раза (p<0,001) щодо контрольної групи тварин. Отримані результати вказують на виражене порушення функціонального стану нирок на тлі інтоксикації тетрахлорметаном, що підтверджує дослідження інших авторів [9].

При корекції даного патологічного стану амінокислотними субстанціями L-орнітином та L-аргініном відмічали покращення функціонального стану нирок. Так, семиденне введення піддослідним тваринам L-орнітину сприяло статистично достовірному підвищенню рівня добового діурезу на 33,15 % (p<0,001) стосовно групи тварин з гепатитом, проте даний показник залишався на 20,60 % нижчим, ніж у щурів контрольної групи (p<0,001). Після введення L-аргініну добовий діурез у пролікованих особин зріс на 16,87 % (p<0,01) щодо тварин з гепатитом, при цьому залишаючись на 30,31 % (p<0,01) меншим стосовно щурів контрольної групи. Поєднане введення L-орнітину та L-аргініну призвело до найбільш вираженої нормалізації добового діурезу: даний показник функціональної здатності нирок зріс на 46,17 % (p<0,01) стосовно групи тварин з гепатитом та залишався на 12,83 % (p<0,001) нижчим, ніж у щурів контрольної групи.

Таблиця – Вплив L-орнітину та L-аргініну на фільтраційну здатність нирок і добовий діурез (з розрахунку на 100 г маси тварини) в умовах гострого токсичного гепатиту (M±m)

Показник	Контроль (n=8)	Гепатит (n=5)	Гепатит+ L-орнітин (n=7)	Гепатит+ L-аргінін (n=6)	Гепатит+ комбінація (n=8)
Діурез, мкл·хв <sup>-1</sup>	37,08±0,88	22,11±0,69 <sup>###</sup>	29,44±0,39 <sup>#####</sup> *	25,84±0,73 <sup>#####</sup> p <sub>1</sub> <0,01	32,32±0,91 <sup>#####</sup> p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,001
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл·хв <sup>-1</sup>	424,3±25,1	193,0±10,4 <sup>###</sup>	246,0±12,0 <sup>#####</sup>	212,9±7,5 <sup>###</sup> p <sub>1</sub> <0,05	328,6±20,9 <sup>#####</sup> p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001
Креатинін (сироватка), мкмоль·л <sup>-1</sup>	71,60±2,53	106,5±3,0 <sup>###</sup>	101,6±2,0 <sup>###</sup>	108,6±2,0 <sup>###</sup> p <sub>1</sub> <0,05	83,0±2,6 <sup>#####</sup> p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
Креатинін (сеча), мкмоль·л <sup>-1</sup>	811,5±15,4	924,3±17,9 <sup>###</sup>	845,7±28,3*	893,4±14,8 <sup>##</sup> p <sub>1</sub> <0,05	836,3±21,6 <sup>**</sup> p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05
Екскреція креатиніну, мкмоль·хв <sup>-1</sup>	0,030±0,001	0,020±0,001 <sup>###</sup>	0,025±0,001 <sup>#####</sup>	0,023±0,001 <sup>###</sup> p <sub>1</sub> <0,05	0,027±0,001 <sup>***</sup> p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,05

Примітки:

1) # – вірогідність відмінностей показників стосовно тварин контрольної групи (# – p<0,05; ## – p<0,01; ### – p<0,001);

2) \* – вірогідність відмінностей показників стосовно групи тварин з гепатитом (\* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001);

3) p<sub>1</sub> – вірогідність відмінностей показників стосовно групи тварин з гепатитом, корегованим L-орнітином;

4) p<sub>2</sub> – вірогідність відмінностей показників стосовно групи тварин з гепатитом, корегованим L-аргініном.

При порівнянні ефективності корегувальних чинників було встановлено, що на тлі застосування L-орнітину діурез виявився статистично достовірно вищим, ніж після L-аргініну (на 12,22 %,  $p_1 < 0,01$ ). Після комбінації досліджуваних субстанцій величина діурезу була істотно більшою, ніж після самого L-орнітину (на 9,78 %,  $p_1 < 0,05$ ) та L-аргініну (на 25,07 %,  $p_2 < 0,001$ ).

Подібні результати отримано при оцінці швидкості клубочкової фільтрації в уражених тварин після проведеної корекції вищевказаними біологічно активними речовинами. Так, парентеральне введення L-орнітину призвело до покращення рівня даного показника на 27,46 % ( $p < 0,01$ ) стосовно такого у нелікованих щурів, при цьому він залишався в 1,7 раза ( $p < 0,01$ ) нижчим від норми для даної популяції особин. Звертає на себе увагу той факт, що застосування L-аргініну з метою стабілізації даного показника не дало видимого результату: швидкість клубочкової фільтрації у щурів з гострим токсичним гепатитом, пролікованих даною субстанцією, залишалася практично у 2 рази ( $p < 0,001$ ) нижчою, ніж у тварин контрольної групи. При використанні комбінації біологічно активних речовин L-орнітину та L-аргініну відмічали найбільш повне відновлення швидкості клубочкової фільтрації у пролікованих щурів, зокрема покращення її на 70,25 % ( $p < 0,001$ ) стосовно тварин з гепатитом, що було на 22,55 % ( $p < 0,05$ ) менше, ніж у тварин контрольної групи.

Рівень креатиніну сироватки крові, який достовірно підвищився після введення отрути, зменшувався лише після поєданого застосування вищевказаних амінокислот (на 22,06 %,  $p < 0,001$ ), при цьому залишався на 15,92 % ( $p < 0,01$ ) нижчим від норми. Щодо креатиніну сечі видимий достовірний ефект на його рівень відмічали після використання самого L-орнітину (на 8,50 %,  $p < 0,05$ ) та в комплексі з L-аргініном (на 9,52 %,  $p < 0,01$ ), при цьому даний показник достовірно не відрізнявся від норми. За ефективністю впливу на екскрецію креатиніну досліджувані субстанції розподілилися так: L-аргінін (достовірних змін, порівняно з нелікованими тваринами, не відзначали) < L-орнітин (підвищилась в 1,25 раза,  $p < 0,01$ ) < комбінація (зросла в 1,35 раза,  $p < 0,001$ ). Після введення L-орнітину екскреція креатиніну була в 1,2 раза ( $p < 0,01$ ) нижчою, ніж у тварин контрольної групи, а після введення комбінації субстанцій – достовірно не відрізнялася від норми.

Отже, в умовах гострої інтоксикації тетрахлорметаном виникають істотні порушення функціонального стану нирок, прояв яких зни-

жується на тлі застосування амінокислот L-орнітину та L-аргініну. Отримані результати узгоджуються з результатами наших попередніх досліджень, які довели, що використання даних субстанцій на тлі гострої тетрахлорметанової інтоксикації сприяло пригніченню пероксидного окиснення ліпідів, стимуляції активності супероксиддисмутази, забезпечувало протекторний вплив на витрати SH-груп та сприяло покращенню функціонального і морфологічного стану клітин печінки [6]. Оцінивши ступені вираження патологічних змін клітин печінки та нирок у цих експериментальних умовах, варто відмітити, що поєдане застосування L-орнітину та L-аргініну супроводжувалося більшим ефектом. Дані результати свідчать про те, що обидві амінокислоти, задіяні в орнітиновому циклі синтезу сечовини, забезпечують утилізацію аміаку, тим самим зменшуючи токсичний вплив останнього на організм і попереджуючи розвиток печінкової енцефалопатії та гострої ниркової недостатності [5]. Крім того, L-орнітин з участю орнітиндекарбоксілази перетворюється в путресцин, на основі якого синтезуються спермідин і спермін, що містяться в усіх клітинах органів і локалізовані в основному в ядрі. Вони входять до складу хроматину і беруть участь в реплікації ДНК, концентрація їх значно збільшується в період активного поділу клітин та росту тканин, саме завдяки цьому він проявляє виражений регенераторний ефект. Проте, на думку багатьох учених [7], даний вплив можливий тільки при нормалізації печінкової гемодинаміки, що в цьому випадку можливо завдяки стимуляції синтезу оксиду азоту (NO) в ендотеліоцитах [2]. Фізіологічна роль останнього полягає в релаксації гладкої м'язової тканини у складі кровоносних судин, чим і покращуються мікроциркуляція та кровообіг печінки і нирок. Зв'язувальною ланкою між орнітиновим циклом та циклом оксиду азоту вважають амінокислоту L-аргінін, яка є безпосереднім попередником L-орнітину та субстратом для NO-синтази – ферменту, що каталізує синтез оксиду азоту (NO). У результаті можна припустити, що амінокислоти L-аргінін і L-орнітин є синергістами, потенціюють дію одна одної, а їх поєдане застосування призводить до найбільшої нормалізації структурної та функціональної здатності уражених тетрахлорметаном як печінки, так і нирок.

**ВИСНОВКИ.** 1. На тлі гострого токсичного ураження тетрахлорметаном внутрішньочеревно у дозі  $2 \text{ мл} \cdot \text{кг}^{-1}$  маси тіла через 8 діб відмічають зниження добового діурезу, швидкості клубочкової фільтрації, підвищення вмісту

креатиніну як у сироватці крові, так і в сечі та зниження рівня його екскреції, що свідчить про розвиток ниркової недостатності у піддослідних щурів.

2. Корегувальне застосування L-орнітину в дозі 1000 мг·кг<sup>-1</sup> і L-аргініну в дозі 500 мг·кг<sup>-1</sup> та їх поєднання сприяють стабілізації і відновленню функціональної здатності нирок. За ефективністю впливу на функціональний стан нирок в умовах гострої інтоксикації тетрахлорметаном досліджувані субстанції розподілилися так: L-аргінін < L-орнітин < комбінація.

3. Однонаправленість гепато- і нефропротекторного впливу досліджуваних субстанцій вказує на універсальність їх впливу на патогенну дію тетрахлорметану та перспективність використання в умовах гепатитів різного походження.

#### **Перспективи подальших досліджень.**

Отримані результати щодо сумісної дії L-аргініну та L-орнітину як стабілізаторів функціональної здатності нирок при токсичному ураженні тетрахлорметаном націлюють на дослідження їх корегувальної ефективності в умовах гострих інтоксикацій іншими нефротропними отрутами.

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Бойчук Т. М. Патофізіологія гепаторенального синдрому при немічній гіпоксії / Т. М. Бойчук, Ю. Є. Роговий, Г. Б. Попович. – Чернівці : Медичний університет, 2012. – 192 с.

2. Ванін А. Ф. Оксид азота в біомедицинських дослідженнях // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 3–5.

3. Гаїна Ж. М. Фактор статі при дослідженні впливу мілдронату на функцію нирок / Ж. М. Гаїна, Р. Б. Косуба // Буковин. мед. вісник. – 2012. – **16**, № 3 (63). – С. 77–79.

4. Короленко Т. А. Субклеточное распределение кислых гидролаз печени крыс при токсическом гепатите / Т. А. Короленко, А. Е. Кондакова, В. Г. Титова // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1975. – **80**, № 7. – С. 34–36.

5. Креховська-Лепявко О. М. Особливості впливу амінокислот L-орнітину та L-аргініну на стан про- та антиоксидантної систем у печінці та крові щурів в умовах гострого токсичного гепатиту / О. М. Креховська-Лепявко, А. А. Гудима // Здобутки клініч. та експерим. медицини. – 2011. – № 1. – С. 77–79.

6. Креховська-Лепявко О. М. Структурні зміни печінки щурів при гострому тетрахлорметановому гепатиті та його корекції L-аргініном та L-орнітином / О. М. Креховська-Лепявко, А. А. Гудима, М. Я. Фурдела // Вісник морфології. – 2012. – **18**, № 1. – С. 40–43.

7. Лопаткина Т. Н. L-орнітин-L-аспартат в комплексній терапії порто-системної енцефалопатії /

Т. Н. Лопаткина, Є. В. Намісників // Захворювання печінки та печінкова енцефалопатія : сателітний симпозиум. – 2002. – С. 3.

8. Олещук О. М. Зміни морфофункціонального стану печінки щурів при гострій інтоксикації тетрахлорметаном на фоні введення L-аргініну та глутаргіну / О. М. Олещук, Т. В. Дацко // Світ медицини та біології. – 2007. – № 3. – С. 24–28.

9. Central antinociceptive effect of L-ornithine, a metabolite of L-arginine, in rats and mice / A. Kawabata, K. Iwatsubo, S. Takaya [et al.] // European Journal of Pharmacology. – 1996. – № 1. – P. 23–31.

10. Does Pharmaconutrition with L-Arginine and/or 6-Tocopherol Improve the Gut Barrier in Bile Duct Ligated Rats? / P. Tuncyurek, M. Sari, O. Firat [et al.] // Eur. Surg. Res. – 2006. – № 38. – P. 4–10.

11. Liano F. Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group / F. Liano, J. Pascual // Kidney Int. – 1996. – **50** (3). – P. 811–818.

12. The spectrum of acute renal failure in the intensive care unit compared with that seen in other settings. The Madrid Acute Renal Failure Study Group / F. Liano, E. Junco, J. Pascual [et al.] // Kidney Int. Suppl. – 1998. – **66**. – P. 16–24.

13. Treatment of cirrhotic rats with L-ornithin-aspartate enhances urea synthesis and lowers serum ammonia levels / R. Gebhardt, G. Beckers, F. Gaunits [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1997. – 283. – P. 1–6.

О. Н. Креховская-Лепявко, А. А. Гудыма, В. Е. Городецкий  
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

## ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ АМИНОКИСЛОТ L-ОРНИТИНА И L-АРГИНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК У КРЫС В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

### Резюме

В условиях острой интоксикации тетрахлорметаном в дозе  $2 \text{ мл} \cdot \text{кг}^{-1}$  массы тела у подопытных животных отмечают развитие почечной недостаточности, что проявляется снижением суточного диуреза, скорости клубочковой фильтрации, повышением содержания креатинина как в сыворотке крови, так и в моче и уменьшением уровня его экскреции. Применение с целью коррекции L-орнитина ( $1000 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ ) и L-аргинина ( $500 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ ) сопровождается выраженным положительным влиянием на функциональное состояние почек, наибольшую эффективность которого наблюдают при совместном использовании.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тетрахлорметан, печень, почки, L-орнитин, L-аргинин.

O. M. Krehovska-Lepyavko, A. A. Hudyma, V. Ye. Horodetskyi  
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

## THE PECULIARITIES OF AMINO ACIDS L-ORNITHINE AND L-ARGININE INFLUENCE ON RENAL FUNCTION IN RATS WITH AN ACUTE TOXIC HEPATITIS

### Summary

On the background of an acute tetrachlormethane intoxication at a dose of  $2 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  of body weight the development of renal failure manifested by a decrease in daily urine output, glomerular filtration rate, increase of creatinine in both serum and urine and reduction of its excretion was observed in experimental animals. The application of L-ornithine ( $1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and L-arginine ( $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) leads to the positive impact on renal function, with the greatest efficiency observed at their combined usage.

KEY WORDS: carbon tetrachloride, liver, kidney, L-ornithine, L-arginine.

Отримано 15.01.13

Адреса для листування: О. М. Креховська-Лепявко, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.