

УДК 612.015.11:616.61-02:616.13/14-005.6-099:546.172.6  
DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2019.v.i3.10466

О. З. Яремчук  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО  
МОЗ УКРАЇНИ

## 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 формувался 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 аміноуанідину 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.Iu., 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 tsitokromoksidazy 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 прооксиданты – 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 18<sup>th</sup> 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 18<sup>th</sup> 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.