

## ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ У РІЗНИХ ОРГАНАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВОДНО-ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ФАРМПРЕПАРАТАМИ

О.П. Хаврона, Л.П. Білецька, Л.Р. Мигаль

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

### Ключові слова:

прооксидантні процеси, антиоксидантні ферменти, печінка, селезінка, легені, диклофенак натрію, L-аргінін.

Буковинський медичний вісник. 2024. Т. 28, № 2 (110). С. 63-69.

DOI: 10.24061/2413-0737.28.2.110.2024.10

### E-mail:

o.khavrona@gmail.com,  
lilua70@gmail.com,  
liliyatygala2004@gmail.com

**Резюме. Мета дослідження** – вивчити вплив L-аргінину і диклофенаку натрію на зміни прооксидантно-антиоксидантного балансу в печінці, селезінці та легенях щурів за умов водно-імобілізаційного стресу.

**Матеріал і методи.** Дослідження проводили на 50 щурах-самцях масою 180-240 г з дотриманням вимог міжнародних біоетичних принципів. Водно-імобілізаційний стрес (ВІС) моделювали за методикою Takagi et al. Експериментальних тварин було розподілено на п'ять груп, по 10 у кожній. Інтактні тварини увійшли до 1-ї контрольної групи; до 2-ї – тварини, яким моделювали ВІС; до 3-ї – тварини, яким вводили диклофенак натрію у дозі 40 мг/кг per os за 30 хв до моделювання стресу; до 4-ї – тварини, яким вводили L-аргінін у дозі 10 мг/кг per os за 30 хв до моделювання стресу; до 5-ї – тварини, яким вводили диклофенак у дозі 40 мг/кг і L-аргінін у дозі 10 мг/кг per os за 30 хв до моделювання стресу. Забір матеріалів для дослідження проводили під тіопенталовим знечуленням (40 мг/кг). Виділяли печінку, селезінку та легені, які в подальшому гомогенізували. Стан системи антиоксидантного захисту оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КАТ). Активність прооксидантних процесів визначали за вмістом ТБК-активних продуктів, рівнем окисної модифікації білків (ОМБ) і молекул середньої маси (МСМ). Статистичну обробку результатів проводили за критерієм Стьюдента, з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel 8.0. Статистично достовірними розбіжностями вважали при  $p < 0,05$ .

**Результати.** Розвиток ВІС сприяв зростанню інтенсивності прооксидантних процесів у печінці: ТБК-активних продуктів на 41%, ОМБ - на 76%, МСМ - на 160%; у легенях: ТБК-активних продуктів на 43%, ОМБ - на 71%, МСМ - на 99%; у селезінці: ТБК-активних продуктів на 110%, ОМБ - на 87%, МСМ - на 205%. При корекції диклофенаком натрію спостерігалось зниження прооксидантних процесів у печінці: ТБК-активних продуктів - на 27%, ОМБ - на 48%, МСМ - на 34%; у легенях: ТБК-активних продуктів - на 23%, ОМБ - на 40%, МСМ - на 19%; у селезінці: ТБК-активних продуктів - на 28%, ОМБ достовірного зниження не спостерігалось, МСМ - на 37%. При корекції L-аргініном також знижувалась активність вказаних процесів, проте менш виражено у всіх органах. У печінці: ТБК-активних продуктів на - 23%, ОМБ - на 31%, МСМ - на 11%; у легенях: ТБК-активних продуктів - на 14%, ОМБ - на 19%, МСМ - на 11%; у селезінці: ТБК-активних продуктів - на 32%, ОМБ достовірного зниження не спостерігалось, МСМ - на 27%. Активність антиоксидантних ферментів, за умов розвитку ВІС, різко знижувалась у печінці: СОД - на 42%, КАТ - на 34%; у легенях СОД і КАТ - на 30 %, у селезінці СОД - на 56%, КАТ - на 40,5%. Уведення диклофенаку натрію призводило до зростання активності вказаних ферментів у печінці: СОД - на 49%, КАТ - на 17%; у селезінці: СОД - на 51%, КАТ - на 17%.; у легенях: СОД - на 17%, КАТ достовірно не підвищувалась. Уведення L-аргінину проявляло слабший вплив на нормалізацію активності антиоксидантних ферментів. У печінці активність СОД зростала на 20%, КАТ – на 12%, у легенях: СОД і КАТ достовірно не підвищувалися, спостерігалась лише тенденція до зростання; у селезінці: СОД - на 29%, КАТ - на 15%. Поєднана дія обох препаратів показала найкращі результати: спостерігалась нормалізація прооксидантних процесів, лише рівень ендогенної інтоксикації залишався децю підвищеним у всіх досліджуваних органах. Активність антиоксидантних ферментів відповідала рівню контрольних показників. Отриманий результат вказує на доцільність поєднаного застосування досліджуваних препаратів.

**Висновки**

## Оригінальні дослідження

1. Виявлено, що під впливом стресових чинників найбільші зміни в про- та антиоксидантному балансі спостерігалися в селезінці, трохи слабші - у печінці і найменші - у легенях досліджуваних тварин.

2. Показано, що диклофенак натрію у дозі 40 мг/кг за умов самостійного введення при ВІС достовірно знижував вміст прооксидантних показників, проявляв нормалізуючу дію на активність антиоксидантів у всіх досліджуваних органах щурів. Препарат достовірно підвищував активність СОД та сприяв стабілізації активності каталази.

3. Уведення L-аргініну у дозі 10 мг/кг за тих самих умов відзначалось зниження прооксидантних процесів, достовірним підвищенням активності СОД у печінці та селезінці та спостерігалася тенденція до зростання каталазної і супероксиддисмутазної активності в легенях щурів.

Встановлено, що поєднана дія препаратів відзначалась найбільш ефективним впливом на стан системи про- та антиоксиданти, оскільки у всіх досліджуваних органах щурів активність СОД та каталази підвищувалась до значень у контрольній групі, що супроводжувалося достовірним зниженням рівня прооксидантних показників до контрольних величин. – оцінити частоту солечутливості і хронічної хвороби нирок (ХХН) у хворих на есенційну артеріальну гіпертензію (ЕАГ) та окремі клінічні симптоми з урахуванням солечутливості/солерезистентності та ХХН.

**Матеріал і методи.** У дослідженні взяло участь 100 хворих на ЕАГ II стадії, яким провели комплекс клінічно-лабораторних обстежень. Солечутливість / солерезистентність визначали за методикою Weinberger M.H. ХХН встановлювали за швидкістю клубочкової фільтрації (ШКФ) за формулою СКД-ЕРІ з урахуванням рівнів креатиніну і цистатину-С крові (KDIGO, 2024).

**Результати.** Хворі на ЕАГ із ХХН (ШКФ<sub>цис</sub> ≤60 мл/хв/1,73м<sup>2</sup>, ≥3 місяців), а також солечутливі пацієнти частіше скаржаться на задуху, кардіалгії – на 17,5-18,8% (p≤0,05-0,022), периферійні набряки – на 41,7-52,1% (p<0,001), головний біль і погіршення сну – на 24,2-32,0% (p≤0,016-0,001), порушення ритму і провідності – на 28,8-34,1% (p≤0,004-0,001), проявляють ознаки депресії – на 17,4-33,7% (p≤0,039-0,001). Ризик кардіалгії, аритмії / блокади, ознаки депресії, задухи, погіршення сну, головного болю у хворих на ЕАГ зростає за солечутливості у 2,4-4,2 рази (OR95%CI:1,0-10,33; p≤0,044), за ХХН – у 2,3-3,8 рази (OR95%CI:1,04-8,86; p≤0,031). Ймовірність периферійних набряків збільшується удвічі сильніше у солечутливих хворих – майже у 14 разів (OR95%CI:4,73-41,06; p<0,001), аніж за ХХН – у 6,3 рази (OR95%CI:2,60-15,37; p<0,001). У солечутливих осіб зростає ризик шлунково-кишкових розладів – майже утричі (p=0,03), а наявність ХХН збільшує шанси на втомлюваність, загальну слабкість – майже у 4 рази (p=0,001).

**Висновок.** Солечутливість та поява ХХН погіршують клінічний перебіг ЕАГ.

## INVESTIGATION OF METABOLIC DISORDERS IN VARIOUS ORGANS IN WATER-IMMERSION RESTRAINT STRESS IN RATS AND ITS CORRECTION WITH PHARMACEUTICALS

O.P. Khavrona, L.P. Biletska, L.R. Myhal

**Key words:** prooxidant processes, antioxidant enzymes, liver, spleen, lungs, diclofenac sodium, L-arginine.

Bukovinian Medical Herald.

2024. V. 28, № 2 (110). P. 63-69.

**Resume. The aim of the study.** To investigate the impact of L-arginine and diclofenac sodium on changes in the prooxidant-antioxidant balance in liver, spleen and lungs in water-immersion restraint stress in rats.

**Materials and methods.** The study was conducted on 50 male rats weighing 180-240 g in accordance with the international bioethical principles. Water-immersion restraint stress (WIRS) was modeled according to the method of Takagi et al. Experimental animals were studied in five groups (n = 10 per group) as follows: (1) intact animals; (2) those in which WIRS was simulated; (3) animals receiving diclofenac sodium (40 mg/kg) per os 30 minutes before WIRS; (4) animals receiving L-arginine (10 mg/kg) per os 30 minutes before WIRS. For sample collection, the rats were deeply anesthetized (thiopental sodium, 40 mg/kg). The liver, spleen and lungs were isolated and homogenized. The state of antioxidant defense system was

assessed by the activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT). To evaluate the activity of prooxidative processes, the levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), oxidative protein modification (OPM) and middle mass molecules (MMM) were investigated. The statistical analysis was performed according to Student's criterion, using Microsoft Excel 8.0 software. Differences were considered statistically significant at  $p < 0,05$ .

**Result.** The development of WIRS led to the increase in the prooxidant processes intensity in liver: TBARS by 41%, OPM by 76%, MMM by 160%; in lungs: TBARS by 43%, OPM by 71%, MMM by 99%; in spleen: TBARS by 110%, OPM by 87%, MMM by 205%. When corrected with diclofenac sodium, a decrease in prooxidant processes was observed in the liver: TBARS by 27%, OPM by 48%, MMM by 34%; in the lungs: TBARS by 23%, OPM by 40%, MMM by 19%; in the spleen: TBARS by 28%, insignificant decrease in OPM, MMM by 37%. The activity of these processes decreased in all organs also when the condition was corrected with L-arginine, although less noticeably: in the liver: TBARS by 23%, OPM by 31%, MMM by 11%; in the lungs: TBARS by 14%, OPM by 19%, MMM by 11%; in the spleen: TBARS by 32%, no statistically significant decrease in OPM, MMM by 27%. The activity of antioxidant enzymes under the conditions of WIRS development abruptly decreased in the liver: SOD by 42% and CAT by 30%; in the lungs: SOD and CAT by 30%; in the spleen: SOD by 56%, CAT by 40%. The administration of diclofenac sodium led to an increase in the activity of these enzymes in the liver: SOD by 49%, CAT by 17%; in the spleen: SOD by 51%, CAT by 17%; no significant change in CAT; in the lungs: SOD by 17% and no significant change in CAT. The administration of L-arginine had less effect on the normalization of antioxidant enzyme activity. The activity of SOD increased by 20%, CAT – by 12% in the liver; in the lungs SOD and CAT did not increase reliably, only a tendency to increase was observed; in the spleen, the activity of SOD increased by 29%, and CAT by 15%. The combined effect of both drugs showed the best results: normalization of prooxidant processes was observed, only the level of endogenous intoxication remained slightly elevated in all studied organs. The activity of antioxidant enzymes coincided with the level of control indicators. The obtained result indicates the expediency of the combined use of the studied pharmaceuticals.

### Conclusions

1. It was found that the greatest changes in the pro- and antioxidant balance under the influence of stress factors were observed in the spleen, slightly less distinct in the liver, and minor in the lungs of the studied animals. It was shown that diclofenac sodium at a dose of 40 mg/kg significantly reduced the level of prooxidant markers, manifested a normalizing effect on the activity of antioxidants in all studied organs of rats. The drug reliably increased the activity of SOD and contributed to the stabilization of catalase activity. The administration of L-arginine at a dose of 10 mg/kg under the same conditions was marked by a decrease in prooxidant processes, a significant increase in SOD activity in the liver and spleen, and a tendency to increase catalase and superoxide dismutase activity in the lungs of rats. The study revealed that the combination of the pharmaceuticals had the most significant effect on the state of pro- and antioxidant system, since the activity of SOD and catalase increased to the control group values, which was accompanied by a serious decrease in the level of prooxidant indicators to the control values.

**Вступ.** За сучасними уявленнями стрес характеризується як неспецифічна відповідь організму на фактори зовнішнього або внутрішнього середовища, які порушують гомеостаз, що загрожує нормальному функціонуванню організму. Відповідь на дію стресу є генералізованою – активуються і тісно взаємодіють нервова, ендокринна та імунна системи, які забезпечують адаптацію організму до стресових чинників. Пристосування до нових умов передбачає зміни механізмів регуляції життєдіяльності організму [1, 5].

Одним із перших елементів реакції на дію

стресових чинників є антиоксидантна система. Її активація зумовлена посиленням ліпопероксидації, генерації вільних радикалів (у т.ч. реактивних форм кисню) та ендогенної інтоксикації [ 2].

Унаслідок зсуву рівноваги в бік прооксидантних процесів розвивається оксидативний стрес, який супроводжується підвищенням вмісту продуктів тіобарбітурової кислоти, молекул середньої маси та окисною модифікацією білків, а також зміною активності антиоксидантних ферментів. Із попередніх досліджень відомо, що реактивні форми кисню та продукти їх взаємодії з іншими радикалами

## Оригінальні дослідження

провокують появу запального процесу [3,4].

Вважають, що запалення є первинним механізмом, який демонструє зв'язок між хронічним стресом і захворюваннями [5]. Зважаючи на можливий характер патологічних змін за умов ВІС, було вирішено використати L-аргінін, який відомий своїми антиоксидантними властивостями, і диклофенак натрію, що чинить виражену протизапальну дію шляхом пригнічення синтезу простагландинів (основних модуляторів запалення) і, таким чином, зменшує усі прояви запалення [6,7].

**Мета роботи** – вивчити вплив L-аргініну і диклофенаку натрію на зміни прооксидантно-антиоксидантного балансу в печінці, селезінці та легенях щурів за умов водно-імобілізаційного стресу.

**Матеріал і методи.** Дослідження проводили на 50 щурах-самцях масою 180-240 г, згідно із вимогами міжнародних біоетичних принципів, дослідження проводилося із дотриманням положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986р.), Директиви Ради Європи 2010/63/EU, Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Водно-імобілізаційний стрес моделювали за методикою Takagi et al. Для цього щурів поміщали в пластикові контейнери, які занурювали у воду ( $t^{\circ}=23\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) до рівня яремної ямки тварин упродовж п'яти годин.

У роботі використовували препарати Диклофенак натрію (АТ «Лубнифарм», Україна) і L-Аргінін (ТОВ «Еліт-Фарм», Україна).

Експериментальних тварин було розподілено на п'ять груп, по 10 у кожній. Інтактні тварини ввійшли до 1-ї контрольної групи; до 2-ї – тварини, яким моделювали ВІС; до 3-ї – яким вводили неселективний блокатор ЦОГ диклофенак натрію у дозі 40 мг/кг per os за 30 хв до моделювання стресу; до 4-ї – яким вводили L-аргінін у дозі 10 мг/кг per os за 30 хв до моделювання стресу; до 5-ї – яким вводили диклофенак у дозі 40 мг/кг і L-аргінін у дозі 10 мг/кг per os за 30 хв до моделювання стресу. Забір матеріалів для дослідження проводили під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Виділяли печінку, селезінку та легені, які в

подальшому гомогенізували. Стан системи антиоксидантного захисту оцінювали за активністю СОД за методом С. Чеварі (1991), каталази – за методом М.А. Королюка (1988). Активність ПОЛ визначали за вмістом ТБК-активних продуктів за методом Р.А. Тімірбулатова (1981), рівень окисної модифікації білків (ОМБ) – за методом Е.Е. Дубініної (1995), молекул середньої маси (МСМ) – за методом Е. Габріелян (1985).

Статистичну обробку результатів проводили за критерієм Стьюдента, з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel 8.0. Статистично достовірними розбіжності вважали при  $p<0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення**

Розвиток стресу зумовлює комплексне ураження організму, а нейрогуморальна активація за цих умов спричиняє виникненню вазоконстрикції та розвитку гіпоксії, що призводить до виникнення оксидативного стресу, який провокує негативний вплив активних форм кисню на клітинні структури. Це пов'язано з утворенням токсичних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), окисної модифікації білків та ДНК [2, 8].

За умов моделювання ВІС у всіх досліджуваних органах спостерігаємо збільшення кількості ТБК-активних продуктів, порівняно з показниками контрольної групи: у печінці – на 41%, легенях – на 43%, селезінці – на 110%, що вказує на найбільше ураження селезінки під впливом стресових чинників (табл.1).

Уведення диклофенаку натрію на тлі ВІС (3-тя група) проявлялося у достовірному зниженні рівня ТБК-активних продуктів відносно 2-ї групи у печінці на 27%, у легенях - на 23%. Більше того, отримані результати навіть достовірно не відрізнялися від значень норми (1-ша група) у печінці та легенях піддослідних тварин, тоді як у селезінці вміст ТБК-активних продуктів все ще залишався достовірно підвищеним порівняно з контролем, хоча по відношенню до значень групи з ВІС знижувався на 28%.

Уведення L-аргініну (4-та група) також призводить до зниження вмісту ТБК-активних продуктів у всіх досліджуваних органах тварин, порівняно з

Таблиця 1

**Дослідження прооксидантних процесів в органах щурів на тлі ВІС та за умов введення диклофенаку натрію та L-аргініну**

		Контроль	ВІС	ВІС + диклофенак	ВІС + L-аргінін	ВІС + диклофенак + L-аргінін
ТБК-активні продукти, мкмоль/г тканини	печінка	15,18±1,20	21,40±4,11*	15,51±1,25**	16,45±2,03**	14,07±0,76**
	легені	10,15±1,21	14,50±1,80*	10,99±0,95**	12,41±0,35	9,06±0,42**
	селезінка	12,16±1,19	25,52±2,20*	18,32±1,26**	17,41±1,35**	10,48±0,87**
ОМБ, у.о./мг білка	печінка	6,28±0,21	11,04±2,23*	5,72±0,28**	7,66±0,34**	3,86±0,18**
	легені	4,71±0,13	8,05±0,85*	4,81±0,26**	6,54±0,18**	3,52±0,11**
	селезінка	8,52±0,35	15,92±1,22*	15,07±0,88**	15,54±0,95**	9,47±0,58**
МСМ, у.о.	печінка	5,51±0,32	14,31±1,15*	9,40±0,85**	12,70±0,36**	7,61±0,33**
	легені	5,17±0,21	10,30±1,04*	8,30±0,84**	9,20±0,21	7,52±0,14**
	селезінка	5,32±0,15	16,24±1,33*	10,26±0,96**	11,85±0,42**	8,04±0,35**

Примітка: \* -  $p<0,05$  відносно контрольної групи; \*\* -  $p<0,05$  відносно групи тварин з ВІС

результатами 2-ї групи, проте найефективніший вплив L-аргініну ми спостерігаємо у гомогенаті селезінки (знижується на 32%), тоді як у печінці вміст ТБК-активних продуктів знижується на 23%, у легенях – на 14%. Отже, якщо порівнювати дію диклофенаку натрію і L-аргініну, то спостерігаємо, що диклофенак натрію краще ніж L-аргінін знижував вміст ТБК-активних продуктів у печінці і легенях, тоді як у селезінці дія L-аргініну була виражена більше ніж диклофенаку натрію. При комбінованому застосуванні обох препаратів у 5-й групі щурів спостерігається повна нормалізація вмісту ТБК-активних продуктів, порівняно з контрольною групою тварин у всіх досліджуваних органах.

На сьогоднішній день доведено, що під дією активних форм кисню перекисному окисненню підлягають не тільки ліпіди, а й білки плазматичних мембран. Вважається, окисно-модифіковані білки є джерелом вільних радикалів, які виснажують запаси клітинних антиоксидантів, а продукти вільнорадикального окиснення білків призводять до окисного ураження ДНК. Крім цього, доведено, що окиснення білків не тільки запускає механізм патологічних процесів при стресі, а є найбільш раннім маркером окислятивного стресу і відображає ступінь ушкодження біомолекул вільними радикалами. Показано, що ВІС спричиняє зростання інтенсивності процесів ОМБ на 76% у печінці, на 71% - у легенях, на 87% - у селезінці (табл.1).

При введенні диклофенаку натрію (3-та група) спостерігали значне зниження процесів ОМБ порівняно з 2-ю групою, аж до повної нормалізації процесів (порівняно з 1-ю групою) у печінці та легенях піддослідних тварин, тоді як у селезінці під впливом диклофенаку натрію відзначалося незначне зниження ОМБ порівняно з групою ВІС (2-га група).

Уведення L-аргініну (4-та група) показало найефективніше зниження процесів ОМБ порівняно з групою ВІС (2-га група) у печінці (на 31%), менше у легенях (на 19%), проте в селезінці достовірного зниження також не виявлено. За умов поєднаного введення обох препаратів, спостерігалось зниження процесів ОМБ у всіх досліджуваних органах тварин до нормальних величин (1-ша група).

Активізація процесів ПОЛ при стресі призводить до різноманітних молекулярних змін як на рівні окремих органів, так і всього організму. Накопичення в клітинах активних форм кисню, продуктів порушеного метаболізму, деструктивних клітинних та тканинних структур, мікробних токсинів, гідропероксидів ліпідів та модифікованих білкових молекул у тканинах і рідинах організму призводить до ендогенної інтоксикації, ступінь якої можна оцінити за вмістом МСМ [9].

У нашому дослідженні, за умов ВІС, спостерігалось значне зростання МСМ, особливо це відзначалося в селезінці, - на 205% і печінці - на 160%, трохи менше у легенях - на 99%. При застосуванні диклофенаку натрію (3-тя група) вміст МСМ знижувався ефективніше у всіх досліджуваних органах тварин, ніж

при застосуванні L-аргініну (4-та група). Цікаво відзначити, що навіть при поєднаному використанні обох препаратів (5-та група) ступінь ендогенної інтоксикації знижувався найбільше, проте все-таки, на відміну від ТБК-активних продуктів та ОМБ, не спостерігалось повної нормалізації МСМ порівняно з 1-ю групою, причому у всіх досліджуваних органах.

Таким чином, на цьому етапі дослідження на тлі ВІС ми спостерігаємо найважчий перебіг окислятивних процесів у селезінці, трохи легше - у печінці і найменше під впливом стресу уражалися легені, що, мабуть, пов'язано з тим, що селезінка належить до периферичних органів імуногенезу та кровотворення. Сучасними дослідженнями показано, що під дією різних несприятливих факторів порушується будова органів імунної системи, змінюється взаємозв'язок імункомпетентних клітин, вміст у них біогенних амінів та інших біологічно активних речовин, а селезінка безпосередньо бере участь у формуванні реакції організму на патологічні впливи [10].

Крім того, відзначається краща ефективність диклофенаку натрію порівняно з L-аргініном, а поєднаний вплив обох препаратів призводив до повної нормалізації прооксидантних процесів, за винятком ендогенної інтоксикації. Такі результати можуть бути пов'язані з тим, що дія стресу супроводжується продукцією прозапальних ензимів: високий рівень ендотеліальних реактивних форм кисню стимулює активність циклооксигенази-2 (ЦОГ-2), під дією якої синтезуються судинозвужуючі простагландини; активується індукцибельна NO-синтаза (iNOS), що каталізує утворення •NO, який взаємодіє з  $O_2^-$  з утворенням пероксинітриду. Посилення експресії iNOS зрушує рівновагу між iNOS та аргіназою, від якої залежить перебіг про- й антизапальних процесів [11].

Згідно із сучасними поглядами, реакція клітин на окислятивний стрес складається з трьох послідовних етапів: активація антиоксидантної системи, розвиток запального процесу, цитотоксичність та загибель клітини [12].

Тому наступним етапом нашого дослідження - з'ясувати стан антиоксидантної системи та вплив досліджуваних препаратів на активність ферментів-антиоксидантів. Отримані результати представлені у таблиці 2.

У результаті проведених досліджень встановлено, що активність обох антиоксидантних ферментів, за умов ВІС, знижувалася у всіх досліджуваних органах: СОД – у печінці на 42%, у селезінці – на 56%, у легенях – на 30%; КАТ – у печінці на 34%, у селезінці – на 40,5%, у легенях майже на 30% відносно даних у щурів інтактної групи (табл.2).

Слід відзначити, при дії ВІС найбільш критично активність обох антиоксидантних ферментів зменшувалась у селезінці щурів, ці дані цілком узгоджувались з високим рівнем прооксидантних показників у цьому органі (табл. 1). Такий ефект, вірогідно, пов'язаний із значним зменшенням об'єму селезінки внаслідок активної відповіді,

## Оригінальні дослідження

Таблиця 2

Дослідження активності системи антиоксидантного захисту в органах щурів на тлі ВІС та за умов введення диклофенаку натрію та L-аргініну

		Контроль	ВІС	ВІС + диклофенак	ВІС + L-аргінін	ВІС + диклофенак + L-аргінін
СОД, у.о./мг білка/хв	печінка	15,18±1,20	8,11±0,68*	12,12±1,05**	10,06±0,90**	14,30±0,78**
	легені	10,15±1,21	7,32±0,30*	8,54±0,80**	7,80±0,36	9,06±0,42**
	селезінка	12,16±1,21	5,52±0,70*	8,32±0,90**	7,41±0,75**	10,40±0,51**
КАТ, мкмоль Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /мг білка/хв	печінка	6,28±0,21	4,12±0,13*	4,81±0,22**	4,61±0,13**	5,86±0,12**
	легені	4,71±0,13	3,32±0,08*	3,56±0,12	3,40±0,05	4,15±0,08**
	селезінка	8,52±0,50	5,07±0,21*	5,92±0,23**	5,54±0,11**	7,47±0,15**

Примітка: \* - p<0,05 відносно контрольної групи; \*\* - p<0,05 відносно групи тварин з ВІС

опосередкованої α-адренергічними волокнами в селезінковому нерві, на стресові подразники [13].

Що стосується впливу диклофенаку натрію (3-тя група) на стан антиоксидантних ферментів в печінці, селезінці, легенях щурів, слід зазначити підвищення активності СОД на 49%, 51%, 17% відповідно порівняно з даними у 2-ї дослідної групи. Каталазна активність у цій групі зростала у печінці і селезінці на 17%, у легенях проявлялася лише тенденція до зростання.

Уведення L-аргініну також сприяло активації обох антиоксидантних ферментів у всіх досліджуваних органах щурів 4-ї групи, а саме активність СОД у печінці зростала на 20%, у селезінці - на 29%, у легенях простежувалася тенденція до зростання. Активність каталази при введенні L-аргініну підвищувалась у печінці, селезінці на 12% і 15% відповідно, у легенях достовірного підвищення не виявлялося відносно показників 2-ї дослідної групи. Відомо, що L-аргінін, як потенційний субстрат для eNOS може відновлювати біодоступність NO, сприяючи пригніченню старіння ендотелію, забезпечуючи баланс у системі про- та антиоксидантів [6, 14].

Однак потрібно зазначити, що дія диклофенаку натрію на стан ферментів антиоксидантного захисту була більш виразною, ніж L-аргініну, оскільки в органах щурів 3-ї групи активність СОД підвищувалась до рівня показників інтактних тварин. Можливий механізм регуляції активності СОД диклофенаком полягає в збільшенні ним спорідненості субстрату до каталітичного центру СОД [15]. Існує альтернативна думка про те, що підвищення активності СОД під дією диклофенаку натрію є захисним механізмом у відповідь на генерацію реактивних форм кисню.

В органах щурів 5-ї групи (поєднане введення препаратів) активність обох антиоксидантних ферментів наближувалась до значень, притаманних

щурам контрольної групи (табл. 2), що вказує на синергічний, компенсаторний характер дії L-аргінін/диклофенаку натрію на антиоксидантний статус за умов поєднаної дії препаратів.

Отримані результати свідчать, що у зв'язку з особливостями адаптаційної відповіді з боку антиоксидантної системи на дію стресових чинників, зумовлених ВІС, характер змін у системі про- та антиоксиданти в різних органах щурів значною мірою залежав від застосованих з метою корекції досліджуваних препаратів.

#### Висновки

1. Виявлено, що під впливом стресових чинників найбільші зміни в про- та антиоксидантному балансі спостерігалися в селезінці, трохи слабші - у печінці і найменші - у легенях досліджуваних тварин.

2. Показано, що диклофенак натрію у дозі 40 мг/кг за умов самостійного введення при ВІС достовірно знижував вміст прооксидантних показників, проявляв нормалізуючу дію на активність антиоксидантів у всіх досліджуваних органах щурів. Препарат достовірно підвищував активність СОД та сприяв стабілізації активності каталази.

3. Уведення L-аргініну у дозі 10 мг/кг за тих самих умов відзначалось зниження прооксидантних процесів, достовірним підвищенням активності СОД у печінці та селезінці та спостерігалася тенденція до зростання каталазної і супероксиддисмутазної активності в легенях щурів.

Встановлено, що поєднана дія препаратів відзначалась найбільш ефективним впливом на стан системи про- та антиоксиданти, оскільки у всіх досліджуваних органах щурів 5-ї групи активність СОД та каталази підвищувалась до значень у контрольній групі, що супроводжувалось достовірним зниженням рівня прооксидантних показників до контрольних величин.

#### References

- Dünser MW, Hasibeder WR. Sympathetic overstimulation during critical illness: adverse effects of adrenergic stress. *J Intensive Care Med.* 2009;24(5):293-316. DOI: 10.1177/0885066609340519.
- Ordyns'kyi YuM. Vplyv stresu na protsesy peroksydnoho okysnennia lipidiv ta antyoksydantnoi systemy v sertsі samtsiv i samyts' schuriv z riznoiu stіikistiu do hipoksii [The effect of stress on the processes of lipid peroxidation and the antioxidant system in the heart of male and female rats with different resistance to hypoxia]. *Medychna ta klinichna khimiia.* 2016;18(3):75-80. DOI 10.11603/mcch.2410-681X. (in Ukrainian).
- Akel Bilgic H, Kilic B, Kockaya BD, Sarac BE, Kilic Suloglu A, Kalayci O, et al. Oxidative stress stimulation leads to cell-specific

- oxidant and antioxidant responses in airway resident and inflammatory cells. *Life Sci.* 2023;315:121358. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.121358.
4. Margotti W, Goldim MPS, Machado RS, Bagio E, Dacoregio C, Bernades G. Oxidative stress in multiple organs after sepsis in elderly rats. *Exp Gerontol.* 2022;160:111705. DOI: 10.1016/j.exger.2022.111705.
5. Finnell JE, Wood SK. Putative Inflammatory Sensitive Mechanisms Underlying Risk or Resilience to Social Stress. *Front Behav Neurosci.* 2018 Oct 26;12:240. DOI: 10.3389/fnbeh.2018.00240.
6. Kawano H, Motoyama T, Hirai N, Kugiyama K, Yasue H, Ogawa H. Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is improved by L-arginine administration: possible role of oxidative stress. *Atherosclerosis.* 2002 Apr;161(2):375-80. DOI: 10.1016/s0021-9150(01)00671.
7. Curcelli EC, Muller SS, Novelli Filho JL. Beneficial effects of diclofenac therapy on serum lipids, oxidized low-density lipoprotein and antioxidant defenses in rats. *Life Sci.* 2008 Apr 9;82(15-16):892-8. DOI: 10.1016/j.lfs.2008.02.004.
8. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 2012;5(1):9-19. DOI: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.
9. Khavrona MІu, Benzel' ІL, Fedin RM, Piniashko OR, Khavrona OP. Korektsiia protsesiv lipoperoksydatsii ta endohennoi intoksykatsii za dopomohoiu ekstraktu travy herani bolotnoi u formi stomatolohichnoi plivky za umov eksperymental'noho stomatytu [Correction of the processes of lipoperoxidation and endogenous intoxication with the help of an extract of the herb of marsh geranium in the form of a dental film under the conditions of experimental stomatitis]. *Ukrains'kyi stomatolohichniy al'manakh.* 2018;1:17-21. DOI:10.31718/2409-0255.1.2018.04. (in Ukrainian).
10. Stewart IB, Warburton DE, Hodges AN, Lyster DM, McKenzie DC. Cardiovascular and splenic responses to exercise in humans. *J Appl Physiol.* 2003;94(4):1619-26. DOI:10.1152/jappphysiol.00040.
11. Shaito A, Aramouni K, Assaf R, Parenti A, Orekhov A, Yazbi AE, et al. Oxidative Stress-Induced Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2022;27(3):105. DOI: 10.31083/j.fbl2703105.
12. Martínez de Toda I, Vida C, Sanz San Miguel L, De la Fuente M. Function, oxidative, and inflammatory stress parameters in immune cells as predictive markers of lifespan throughout aging. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:4574276. DOI: 10.1155/2019/4574276.
13. Shephard RJ. Responses of the human spleen to exercise. *J Sports Sci.* 2016;34(10):929-36. DOI: 10.1080/02640414.2015.1078488.
14. Khalaf D, Krüger M, Wehland M, Infanger M, Grimm D. The Effects of Oral L-Arginine and L-Citrulline Supplementation on Blood Pressure. *Nutrients.* 2019;11(7):1679. DOI: 10.3390/nu11071679.
15. Curcelli EC, Muller SS, Novelli Filho JL. Beneficial effects of diclofenac therapy on serum lipids, oxidized low-density lipoprotein and antioxidant defenses in rats. *Life Sci.* 2008;82(15-16):892-8. DOI: 10.1016/j.lfs.2008.02.004.

#### Відомості про авторів

**Хаврона Оксана Павлівна** – канд. біол. наук, доцент кафедри біологічної хімії ЛНМУ імені Данила Галицького, м. Львів, Україна. <https://orcid.org/0009-0002-0747-6354>

**Білецька Лілія Петрівна** – канд. біол. наук, асистент кафедри біологічної хімії ЛНМУ імені Данила Галицького, м. Львів, Україна. <https://orcid.org/0000-0001-5073-924X>

**Мигаль Лілія Романівна** – студентка 3-го курсу медичного факультету ЛНМУ імені Данила Галицького, м. Львів, Україна. <https://orcid.org/0009-0008-1817-2202>

#### Information about the authors

**Khavrona Oksana** – PhD, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine. <https://orcid.org/0009-0002-0747-6354>

**Biletska Liliya** - PhD, Assistant of the Department of Biological Chemistry, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine. <https://orcid.org/0000-0001-5073-924X>

**Myhal Liliya** – 3<sup>rd</sup> year student of the Faculty of Medicine, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine. <https://orcid.org/0009-0008-1817-2202>

*Надійшла до редакції 01.04.24*

*Рецензент – проф. Ткачук С.С.*

*© О.П. Хаврона, Л.П. Білецька, Л.Р. Мигаль., 2024*