

Міністерство охорони здоров'я України
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Лис Оксана Богданівна

УДК: 611.12:591.147-02:612.014.844:547.495.9]-092-019

**ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ
ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ В УМОВАХ АДРЕНАЛІНОВОГО
ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ L-АРГІНІНОМ**

222 – медицина

22 - охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О.Б. Лис

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник: Регеда Михайло Степанович, доктор медичних наук,
професор, Заслужений працівник освіти України

Львів-2022

АНОТАЦІЯ

Лис О.Б. Патогенетичні особливості розвитку іммобілізаційного стресу в умовах адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина (22 Охорона здоров'я). – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2022.

Дисертаційна робота присвячена вивченню особливостей порушень показників системи оксиду азоту, ендогенної інтоксикації, процесів ліпопероксидації і антиоксидантного захисту, активності трансаміназ в крові і міокарді в динаміці (1-а, 3-я, 5-а доби) формування адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу до та після застосування L-аргініну.

Експериментальні дослідження проводились на 110 білих щурах (самцях), лінії Вістар, масою тіла 0,18 - 0,2 кг., що утримувалися на стандартному раціоні віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Білі щурі розподілені на п'ять груп: перша – інтактні тварини (10) – контроль; друга (дослідна) група, яка містила три підгрупи (по 10 тварин), (30) з ІС відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби експерименту (до лікування); третя (дослідна) група, яка містила три підгрупи (по 10 тварин), (30) з АПМ відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби експерименту (до лікування); четверта (дослідна) група, яка мала три підгрупи (по 10 тварин), (30) з поєднаною патологією ІС та АПМ відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби експерименту (до лікування); п'ята (дослідна) група – (10) – білі щурі з ІС та АПМ на 5-у добу експерименту після лікування препаратом L-аргініном, який вводили внутрішньом'язово у дозі 150 мг/кг впродовж 5 днів (з 1-ї по 5-у доби).

Відтворювали адреналінове пошкодження міокарда (АПМ) за методом О.О. Маркової. Моделювали іммобілізаційний стрес за методом П.Д. Горизонтова, О.І. Белоусова, М.І. Федотова.

Адреналінове пошкодження міокарда поєднане з іммобілізаційним стресом (1-а, 3-я, 5-а доби) зумовлює підвищення вмісту дієнових кон'югатів (ДК) відповідно на 212,7% ($P<0,05$), 178,8% ($P<0,05$), 125,4% ($P<0,05$) малонового діальдегіду (МДА) на 119,5% ($P<0,05$), 87,4% ($P<0,05$), 13,5% ($P<0,05$) та зниження активності супероксиддисмутази (СОД) відповідно на 26,21% ($P<0,05$), 27,4% ($P<0,05$), 31,0% ($P<0,05$), активності каталази (КТ) на 17,2% ($P<0,05$), 25,2% ($P<0,05$), 36,8% ($P<0,05$) в крові відносно контрольної групи тварин, що свідчить про розвиток оксидантного стресу.

Застосування L-аргініну впродовж 5-и днів (з 1-ої по 5-у доби) призводило до зниження рівня ДК і МДА відповідно на 26,5% ($P<0,05$) і 11,0% та підвищення активності СОД і КТ в крові відповідно на 40,5% ($P<0,05$) і 49,3% ($P<0,05$) проти групи тварин, що не вводили цей препарат, що вказує на його антиоксидантний вплив за умов формування адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу.

Маніфестація поєднаної патології - адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу (1-а, 3-я, 5-а доби) спричиняє зростання концентрації молекул середньої маси 254 (MCM_{254}) відповідно на 192,1% ($P<0,05$), 147,3% ($P<0,05$), 126,3% ($P<0,05$), молекул середньої маси 280 (MCM_{280}) відповідно на 219,3% ($P<0,05$), 183,8% ($P<0,05$), 154,8% ($P<0,05$) та еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІ) в крові відповідно на 131,6% ($P<0,05$), 105,6% ($P<0,05$), 100,0% ($P<0,05$) в порівнянні з першою групою тварин, що вказує на перманентне зростання процесів ендогенної інтоксикації, яке особливо переважало на 1-у добу експерименту.

Використання L-аргініну викликало зниження вмісту MCM_{254} на 60,0% ($P<0,05$), MCM_{280} на 31,6% ($P<0,05$) і ЕІ на 39,6% ($P<0,05$) в крові

проти тварин з адреналіновим пошкодженням міокарда і іммобілізаційним стресом на 5-у добу експерименту без впливу цього середника, що свідчило про його коригувальну дію на порушені показники метаболічних процесів.

Адреналінове пошкодження міокарда в умовах іммобілізаційного стресу (1-а, 3-я, 5-а доби) зумовлює підвищення активності аспартатамінотрансферази (АСТ) відповідно на 118,7% ($P<0,05$), 77,0% ($P<0,05$), 66,6% ($P<0,05$) та активності аланінамінотрансферази (АЛТ) в крові відповідно на 290,0% ($P<0,05$), 255,0% ($P<0,05$) і 227,5% ($P<0,05$) проти інтактної групи тварин.

Застосування L-аргініну впродовж 5-и днів призводило до зниження активності АЛТ і АСТ в крові відповідно на 60,0% і 68,7% ($P<0,05$) відносно групи тварин з цими експериментальними моделями хвороби до лікування, що свідчило про його коригуючий вплив на змінені показники трансаміназ.

Встановлено, що на 1-у, 3-ю і 5-у доби розвитку адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу відбувається підвищення вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту (NO) в крові відповідно на 95,8% ($P<0,05$), 87,5% ($P<0,05$), 79,2% ($P<0,05$), сумарної активності синтаз оксиду азоту (NOS) відповідно на 130,8% ($P<0,05$), 100,0% ($P<0,05$), 84,6% ($P<0,05$) на тлі зниження рівня L-аргініну в крові відповідно на 32,6% ($P<0,05$), 36,2% ($P<0,05$) і 38,3% ($P<0,05$) в порівнянні з першою групою тварин.

У процесі розвитку адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу (1-а, 3-я, 5-а доби) спостерігалось зростання концентрації стабільних метаболітів NO в міокарді відповідно на 96,6% ($P<0,05$), 80,0% ($P<0,05$), 70,0% ($P<0,05$) і сумарної активності NOS відповідно на 90,0% ($P<0,05$), 80,0% ($P<0,05$), 70,0% ($P<0,05$) та зниження рівня L-аргініну в міокарді відповідно на 40,0% ($P<0,05$), 60,0% ($P<0,05$), 64,0% ($P<0,05$) відносно контрольної групи тварин, що може вказувати на

посилення ушкодження ендотелію судин та порушення показників системи оксиду азоту.

Застосування L-аргініну спричиняло зниження рівня стабільних метаболітів NO та активності NOS відповідно на 30,8% ($P<0,05$), 36,6% та підвищення L-аргініну в крові на 46,8 ,а також зниження вмісту стабільних метаболітів NO і NOS в міокарді відповідно на 21,5% ($P<0,05$), 35,2% ($P<0,05$) та зростання рівня L-аргініну в міокарді на 66,6% ($P<0,05$) відносно групи тварин з АПМ і ІС, які не піддавалися дії цього лікарського середника, що свідчило про його коригувальну дію на порушені маркери системи оксиду азоту.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше показано патогенетичні особливості змін процесів ліпопероксидації і антиоксидантного захисту, активності трансаміназ ,ендогенної інтоксикації і системи оксиду азоту в крові і міокарді та доведена їх активна участь в патогенезі розвитку адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу.

Уперше встановлено, що адреналінове пошкодження міокарда і іммобілізаційний стрес спричиняє активізацію оксидантних процесів на усіх періодах їх розвитку на тлі пригнічення антиоксидантної системи з формуванням оксидантного стресу особливо на 5-у добу експерименту.

Уперше з'ясовано, що поєднана патологія (адреналінове пошкодження міокарда і іммобілізаційний стрес) викликає посилення ендогенної інтоксикації впродовж усіх етапів їх формування з домінуванням на 1-у добу експерименту.

Уперше визначено, що на усіх етапах спостереження відбувалося стабільне зростання активності трансаміназ в крові з перевагою на 1-у добу формування адреналінової міокардіопатії і стресу.

Уперше показано, що впродовж усіх періодів розвитку адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу

спостерігалось підвищення вмісту вторинних метаболітів оксиду азоту і сумарної активності NO синтаз на тлі зниження рівня L-аргініну в крові і міокарді, що були найбільше виражені на 5-у добу експерименту.

Уперше доведено коригуючий вплив L-аргініну на порушені маркери метаболічних процесів за умов формування адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані нами результати досліджень розширюють та поглиблюють існуючі знання про механізми розвитку адреналінової міокардіопатії і іммобілізаційного стресу і можуть бути використані в подальшій науково-дослідній роботі і в навчальному процесі.

Коригуючий вплив L-аргініну на порушені показники метаболічних процесів вказує на доцільність його подальшого вивчення і застосування в клініці за умов формування адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу та розробки методичних рекомендацій.

Результати дослідження впроваджені в навчальний процес на кафедрі патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету, Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”, кафедрі анатомії, фізіології та патології Львівського медичного інституту, що підтверджено актами впровадження.

Ключові слова: адреналінове пошкодження міокарда, іммобілізаційний стрес, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, трансамінази, оксид азоту, L-аргінін.

Список публікацій здобувача за темою дисертації.

• **Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Peculiarities of disorders of nitrogen oxide system in the blood at adrenalin-induced myocardial injury in conditions of immobilization stress and their correction by l-arginine. **Лис О.Б.**, Регеда М.С., Семенців Н. Г., Регеда-Фурдичко М.М, Регеда С.М. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2021. Vol. №4 (32). P. 24-28 (*Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки*).

2. **Lys O.**, Regeda M. Endogenic intoxication in blood under conditions of combination pathology – immobilizational stress and adrenaline myocardial damage and correction of L-Arginin. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9(3). P. 218-224 (*Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки*).

3. **Лис О.Б.**, Регеда М.С., Грушка О.І. Особливості порушень процесів пероксидного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові у динаміці розвитку іммобілізаційного стресу при адреналіновому ушкодженні міокарда. *Вісник наукових досліджень*. 2018 №3. С. 134-137. (*Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки*).

4. **Лис О.Б.**, Регеда М.С. Ступінь ендогенної інтоксикації в динаміці розвитку поєднаної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарду. *Вісник наукових досліджень*. 2019 № 1. С.131-134. (*Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки*).

5. **Лис О.Б.** Стан ендогенної інтоксикації в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарду. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2019. № 2(86). С. 46–50.

6. **Лис О.Б., Грушка О.І.** Особливості змін активності трансаміназ у крові в динаміці поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2020. №3/4(91). С.26-30. (Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

• **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

7. **Lys O.** Content of diene konugatives and malonic dialdehyde in blood for rats in dynamics of formation of immobilizational stress. *Conference "Technology transfer: innovative solutions in medicine"* 30.10.2018, Tallinn, Estonia, 2018. С.18-20.

8. **Lys O.** Molecules of the middle mass in immobilizational stress development dynamics. «*Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку та корекції патологічних станів*»: матеріали міжвузівської науково-практичної конференції молодих учених та студентів з міжнародною участю 5-6 квітня 2019 року, Харків. 2019. С.17.

9. **Лис О.Б.** Особливості змін активності трансаміназ у крові в умовах розвитку іммобілізаційного стресу. *Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках*: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 4–5 грудня 2020 р. Київ. 2020. С.12 -13

10. **Лис О.Б.** Активність трансаміназ в крові при адреналіновому пошкодженні міокарда. *Перспективні напрямки розвитку сучасних медичних*

та фармацевтичних наук: збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції 12-13 лютого 2021, Дніпро. 2021. С. 10-11.

ANNOTATION

Lys O.B. Pathogenetic features of the development of immobilization stress under the conditions of adrenaline myocardial damage and its correction by L-arginine. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation for degree of Doctor of Philosophy, specialty 222 – Medicine (22 Health care). – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2022.

The dissertation work is devoted to the study of features of nitric oxide system disorders, endogenous intoxication, processes of lipoperoxidation and antioxidant protection, activity of transaminases in blood and myocardium in the dynamics (1st, 3rd, 5th days) of adrenaline myocardial damage before and after the administration of L-arginine.

Experimental studies were performed on 110 Wistar line white rats (males) with the weight of 0,18 – 0,2 kg, which were kept on the standard vivarium diet in Danylo Halytsky Lviv National Medical University.

White rats were divided into the five groups: the first group – intact animals (10) – control; the second (experimental) group consisted of three subgroups (10 animals), (30) with immobilization stress (IS), on the 1st, 3rd and 5th days of the experiment (before treatment) respectively; the third (experimental) group consisted of three subgroups (10 animals), (30) with adrenaline myocardial damage (AMD) on the 1st, 3rd and 5th days of the experiment (before treatment) respectively; the fourth (experimental) group consisted of three subgroups (10 animals), (30) with combined pathology of IS and AMD on the 1st, 3rd and 5th days of the experiment (before treatment) respectively; the fifth (experimental) group – (10) – white rats with IS and AMD on the 5th day of the experiment after

treatment with L-arginine, which was administered intramuscularly in a dose of 150 mg/kg for 5 days (from the 1st till the 5th day).

Adrenaline myocardial damage was induced by the method of O.O. Markova. Immobilization stress was induced by the method of P.D. Horizontova, O.I. Belousova, M.I. Fedotova.

Adrenaline myocardium damage in combination with immobilization stress (1st, 3rd, 5th days) caused an increase in the content of diene conjugates (DC) by 212,7% ($P<0,05$), 178,8% ($P<0,05$), 125,4% ($P<0,05$), malonic dialdehyde (MDA) by 119,5% ($P<0,05$), 87,4% ($P<0,05$), 13,5% ($P<0,05$) and a decrease in the activity of superoxide dismutase (SOD) by 26,21% ($P<0,05$), 27,4% ($P<0,05$), 31,0% ($P<0,05$), catalase (CT) by 17,2% ($P<0,05$), 25,2% ($P<0,05$), 36,8% ($P<0,05$) in the blood compared to the control group of animals, indicating the development of oxidative stress.

5 days administration of L-arginine (from the 1st to the 5th day) led to decreased level of DC and MDA by 26,5% ($P<0,05$) and 11,0% respectively, and increased activity of SOD and CT in the blood by 40,5% ($P<0,05$) and 49,3% ($P<0,05$) compared to the group of animals which haven't received such treatment. This indicates L-arginine antioxidant effect in conditions of adrenaline myocardial damage and immobilization stress.

Manifestation of combined pathology – adrenaline myocardial damage and immobilization stress (1st, 3rd, 5th days) caused an increase of concentration of molecules with average weight of 254 (MWM_{254}) by 192,1% ($P<0,05$), 147,3% ($P<0,05$), 126,3% ($P<0,05$) respectively, medium weight molecules 280 (MWM_{280}) by 219,3% ($P<0,05$), 183,8% ($P<0,05$), 154,8% ($P<0,05$) respectively, and erythrocyte intoxication index (EII) in the blood by 131,6% ($P<0,05$), 105,6% ($P<0,05$), 100,0% ($P<0,05$) compared to the first group of animals. This indicates a permanent increase in endogenous intoxication, which was particularly prevalent on the 1st day of the experiment.

Administration of L-arginine caused a decrease in the content of MSM₂₅₄ by 60,0% (P<0,05), MSM₂₈₀ by 31,6% (P<0,05) and EII by 39,6% (P<0,05) in the blood on the 5th day of the experiment compared to the animals with adrenaline myocardial damage and immobilization stress which haven't received such treatment. This indicates the corrective effect of L-arginine on impaired metabolic processes.

Adrenaline myocardial damage under conditions of immobilization stress (1st, 3rd, 5th days) caused an increase in aspartate aminotransferase (AST) activity by 118,7% (P<0,05), 77,0%, (P<0,05), 66,6% (P<0,05) and alanine aminotransferase (ALT) activity in the blood by 290,0% (P<0,05), 255,0% (P<0,05) and 227,5% (P<0,05) compared to the intact group of animals.

The 5 days administration of L-arginine resulted in decreased activity of ALT and AST in the blood by 60,0% and 68,7% (P<0,05) respectively, compared to the group of animals with experimental model of the disease before the treatment, indicating the corrective effect of L-arginine on altered transaminases.

It was found that on the 1st, 3rd and 5th days of adrenaline myocardial damage and immobilization stress there is an increase in the content of stable metabolites of nitric oxide (NO) in the blood by 95,8% (P<0,05), 87,5% (P<0,05), 79,2% (P<0,05) respectively, and increase of total activity of nitric oxide synthase (NOS) by 130,8% (P<0,05), 100,0% (P<0,05), 84,6% (P<0,05) on the background of a decreased level of L-arginine in the blood by 32,6% (P<0,05), 36,2% (P<0,05) and 38,3% (P<0,05) respectively, compared to the first group of animals.

During the development of adrenaline myocardial damage and immobilization stress (1st, 3rd, 5th days) we revealed an increase of concentration of stable NO metabolites in the myocardium by 96,6% (P<0,05), 80,0% (P<0,05), 70,0% (P<0,05) respectively and increase of total NOS activity by 90,0% (P<0,05), 80,0% (P<0,05), 70,0% (P<0,05) and a decrease of level of L-arginine in the myocardium by 40,0% (P<0,05), 60,0% (P<0,05), 64,0% (P<0,05)

compared to the control group of animals. This data may indicate increased damage of the vascular endothelium and violation of the nitric oxide system.

Administration of L-arginine resulted in decreased level of stable NO metabolites and NOS activity by 30,8% ($P<0,05$), 36,6% and increased level of L-arginine in the blood by 46,8%, as well as a decreased level of stable NO metabolites and NOS in the myocardium by 21,5% ($P<0,05$), 35,2% ($P<0,05$) and increased level of L-arginine in the myocardium by 66,6% ($P<0,05$) compared to the groups of animals with AMD and IS, which were not administered with L-arginine. This indicates its corrective effect on the disturbed markers of the nitric oxide system.

Scientific novelty of the obtained results. The pathogenetic features of changes in lipoperoxidation and antioxidant protection, transaminase activity, endogenous intoxication and nitric oxide system in blood and myocardium, and their active participation in the pathogenesis of adrenaline myocardial damage and immobilization stress were shown for the first time.

For the first time it was established that adrenaline damage of the myocardium and immobilization stress causes the activation of oxidative processes at all periods of their development on the background of suppression of the antioxidant system with the formation of oxidative stress, especially on the 5th day of the experiment.

For the first time it was found that the combined pathology (adrenaline myocardial damage and immobilization stress) causes increased endogenous intoxication during all stages of its formation with the dominance on the 1st day of the experiment.

It was determined for the first time that there was a steady increase in the activity of transaminases in the blood at all stages of observation with a predominance on the 1st day of the formation of adrenaline cardiomyopathy and stress.

For the first time it was shown that during all periods of adrenaline myocardial damage and immobilization stress there was an increase in the content of secondary metabolites of nitric oxide and total activity of NO synthase on the background of decreased level of L-arginine in blood and myocardium, which were the most pronounced on the 5th day of experiment.

The corrective effect of L-arginine on disturbed markers of metabolic processes under the conditions of formation of adrenaline myocardial damage and immobilization stress was proved for the first time.

The practical significance of the obtained results. The obtained results significantly expand and deepen the existing ideas about the mechanisms of adrenaline myocardiopathy and immobilization stress and can be used in further research and educational work.

The corrective effect of L-arginine on the disturbed indicators of metabolic processes indicates the feasibility of its further study and use in the clinic for correction of adrenaline myocardial damage and immobilization stress as well as in the development of guidelines.

The results of the research are implemented into the educational process at the departments of pathological physiology of Ivano-Frankivsk National Medical University, I.Horbachevsky Ternopil National Medical University, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Bukovynian State Medical University, Department of Anatomy, Physiology pathology of the Lviv Medical Institute, which is confirmed by acts of implementation.

Key words: adrenaline myocardial damage, immobilization stress, lipid peroxidation, antioxidant system, transaminases, nitric oxide, L-arginine.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень	18
Вступ.....	20
Розділ 1 Сучасні уявлення про розповсюдження, причини та механізми розвитку ішемічної хвороби серця та стресу. Характеристика досліджуваного лікарського середника L-аргініна (огляд літератури).....	26
1.1 Епідеміологія, патогенез розвитку стресу.....	26
1.2 Епідеміологія, причини і механізми формування ішемічної хвороби серця.....	35
1.3 Характеристика досліджуваного лікарського середника L-аргініна.....	43
Розділ 2 Матеріали та методи досліджень.....	48
2.1 Лабораторні тварини, їх розподіл на групи.....	48
2.2 Експериментальні моделі хвороб.....	50
2.2.1. Модель адреналінового пошкодження міокарду.....	50
2.2.2. Модель експериментального іммобілізаційного стресу....	50
2.3 Одержання гомогенатів серця у щурів.....	51
2.4 Методи дослідження.....	51
2.4.1. Біохімічні методи дослідження.....	51
2.4.1.1. Визначення активності каталази.....	52
2.4.1.2. Визначення активності супероксиддисмутази.....	52
2.4.1.3. Спектрофотометричне визначення вмісту дієнових кон'югатів.....	53
2.4.1.4. Визначення вмісту малонового діальдегіду.....	54
2.4.1.5. Визначення концентрації молекул середньої маси.....	55

2.4.1.6. Визначення еритроцитарного індексу інтоксикації.....	55
2.4.1.7. Визначення активності аланінамінотрансферази.....	56
2.4.1.8. Визначення активності аспартатамінотрансферази.....	56
2.4.1.9 Визначення вільного аргініну.....	57
2.4.1.10 Визначення сумарних продуктів оксиду азоту (нітрит і нітрат йонів) у біологічних рідинах.....	57
2.4.1.11 Визначення сумарної активності синтази оксиду азоту..	58
2.4.4 Статистичне опрацювання отриманих результатів.....	59
Розділ 3 Особливості порушень прооксидантно-антиоксидантних процесів у крові в динаміці формування експериментального іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда в щурів та корекція їх L-аргініном.....	60
3.1 Зміни маркерів прооксидантної і антиоксидантної систем в крові тварин в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу.....	62
3.2 Порушення маркерів оксидантної і антиоксидантної систем в крові тварин в динаміці розвитку АПМ.....	66
3.3 Особливості порушень прооксидантно-антиоксидантних процесів у динаміці розвитку іммобілізаційного стресу та АПМ.	70
3.4 Вплив препарату L-аргініну на порушені маркери оксидантної і антиоксидантної системи в крові при ІС і АПМ.....	75
Розділ 4 Значення змін маркерів ендогенної інтоксикації у крові в механізмі розвитку іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном.....	80
4.1 Особливості змін маркерів ендогенної інтоксикації в крові щурів в динаміці формування іммобілізаційного стресу.....	81
4.2 Зміни маркерів ендогенної інтоксикації в крові щурів за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда.....	84

4.3	Зсув маркерів ендогенної інтоксикації в крові щурів за умов розвитку поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.....	87
4.4	Вплив L-аргініну на порушені процеси ендогенної інтоксикації в крові щурів при іммобілізаційному стресі та адреналіновому пошкодженні міокарда.....	89
Розділ 5 Активність трансаміназ в крові при поєднаній патології іммобілізаційному стресі та адреналіновому пошкодженні міокарда в динаміці їх розвитку та корекція L-аргініном.....		93
5.1	Активність трансаміназ в крові тварин в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу.....	94
5.2	Активність трансаміназ в крові тварин в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда.....	97
5.3	Активність трансаміназ в крові тварин в динаміці розвитку поєднаної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.....	99
5.4	Вплив L-аргініну на активність трансаміназ в крові в динаміці розвитку поєднаної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.....	101
Розділ 6 Стан системи оксиду азоту в крові та міокарді при поєднаній патології - іммобілізаційному стресі та адреналіновому пошкодженні міокарда в динаміці їх розвитку та корекція їх порушень L-аргініном...		105
6.1	Особливості змін активності показників системи NO та L-аргініну в крові та міокарді тварин в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу	106
6.2	Порушення показників системи NO та L-аргініну в крові та міокарді тварин в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда.....	109

6.3 Особливості порушень маркерів системи NO та L-аргініну в крові та міокарді тварин в динаміці формування іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.....	113
6.4 Вплив L-аргініну на порушені показники системи NO в крові та міокарді за умов формування поєднаної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.....	118
Розділ 7 Аналіз та узагальнення результатів дослідження.....	123
Висновки.....	148
Рекомендації щодо наукового і практичного використання здобутих результатів.....	151
Список використаних джерел.....	152
Додатки.....	178

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЛТ – аланінамінотрансфераза
АСТ - аспартатамінотрансфераза
АПМ – адреналінове пошкодження міокарда
АОЗ – антиоксидантний захист
АОС – антиоксидантна система
БАР – біологічно активні речовини
ВРО – вільнорадикальне окиснення
ГІМ – гострий інфаркт міокарда
ДК – дієнові кон'югати
ЕІ – ендогенна інтоксикація
ЕП– еритроцитарний індекс інтоксикації
ЕМХ – експериментальна модель хвороби
Іg – імуноглобуліни
ІІ - інтерлейкін
ІС– іммобілізаційний стрес
ІХС– ішемічна хвороба серця
КТ - каталаза
МДА – малоновий діальдегід
МСМ – молекули середньої маси
НСТ – тест відновлення нітросинього тетразолію
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
ССЗ – серцево-судинні захворювання
ССП – серцево-судинна патологія
СОД – супероксиддисмутаза
ФАЛ – фагоцитарна активність лейкоцитів
ФНП – фактор некрозу пухлин
ЦІК – циркулюючі імунні комплекси

ЦП - церулоплазмін

NO – оксид азоту

NOS – сумарна активність синтаз оксиду азоту

ВСТУП

Актуальність теми. Серцево - судинні захворювання (ССЗ) за останні декілька десятиліть займають одне з провідних місць за розповсюдженістю і смертністю, серед яких ішемічна хвороба серця (ІХС) є основною патологією, пріоритетною причиною якої є некротичні процеси в міокарді, що виникли як наслідок атеросклерозу коронарних судин, стресів, артеріальної гіпертензії, ожиріння, гіподинамії, метаболічних порушень [85, 91, 117, 118, 211].

За останні роки розвиток індустріалізації, прискорення темпів життя людини, науково-технічна революція та інші чинники викликають істотний вплив на організм людини і тварини різних стресів. Відомо, що надмірна і тривала дія стрес-чинників, стрес-реакція може стати основою для розвитку хвороб [88, 139, 207].

За оцінками фахівців, від різних нервово-психічних розладів страждає кожний третій українець. Інвалідизація від психосоматичних захворювань вийшла на друге місце серед інших нозологій [6, 87, 204].

Літературні джерела свідчать про те, що в умовах стресу неспецифічна відповідь організму супроводжується накопиченням легкоокислювальних ліпідів, надлишковим утворенням вільнорадикальних продуктів, порушенням мікроциркуляції і поступовим виснаженням біоантиоксидантів [51, 89, 93, 113, 170].

Як вказують ряд науковців, що в медичному світі гостро стоїть проблема коморбідної патології, яка може змінювати фізіологічні процеси в організмі, знижувати його адаптаційні можливості, ефективність лікування, посилювати розвиток різних ускладнень, і перебіг хвороб та погіршувати їх прогноз [112, 113].

У даний час, уже відомі етіологічні чинники формування ішемічної хвороби серця, проте, до кінця не з'ясований є патогенез її розвитку, а особливо за умов поєднаної патології - ІХС і іммобілізаційного стресу (ІС).

Зокрема не вивченим є питання, що стосуються ролі і особливостей порушень оксидантних і антиоксидантних процесів, активності трансаміназ, ендогенної інтоксикації, показників системи оксиду азоту в крові і міокарді в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда (АПМ) і ІС до та після застосування L-аргініну.

З огляду на це, проблема поєднаної патології – адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу є важливою, актуальною і потребує проведення подальших як експериментальних так і клінічних досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом комплексної науково-дослідницької роботи кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Патогенетичні особливості перебігу алергічних і запальних процесів, стресу, адреналінового пошкодження міокарду та їх патологічна терапія» (№ державної реєстрації 0116U004503). Здобувач є співвиконавцем зазначеної НДР.

Мета дослідження: з'ясувати патогенетичні особливості порушень оксидантних і антиоксидантних процесів, системи оксиду азоту, ендогенної інтоксикації і активності трансаміназ в патогенезі розвитку адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу та встановити ефективність L-аргініну в їх корекції.

Завдання дослідження:

1. Дослідити особливості порушень процесів ліпопероксидації і антиоксидантного захисту в крові у динаміці формування адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу.

2. З'ясувати роль і ступінь ендогенної інтоксикації у механізмах розвитку адреналінової міокардіопатії і стресу.

3. Вивчити особливості змін активності трансаміназ в крові на 1-у, 3-ю, 5-у доби розвитку цих поєднаних патологій.

4. Охарактеризувати стан показників системи оксиду азоту в крові і міокарді за умов формування адреналінового пошкодження міокарда і стресу.

5. Встановити коригуючий вплив L-аргініну на показники порушених метаболічних процесів при адреналіновому пошкодженні міокарда в умовах іммобілізаційного стресу.

Об'єкт дослідження: адреналінове пошкодження міокарда в умовах іммобілізаційного стресу.

Предмет дослідження: Показники ліпопероксидації і активності антиоксидантної системи, ендогенної інтоксикації, активності трансаміназ, системи оксиду азоту в крові і міокарді в інтактних тварин, щурів з адреналіновим пошкодженням міокарда і іммобілізаційним стресом до та після корекції L-аргініном.

Методи дослідження:

- експериментальні – моделювання адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу;

- біохімічні – для оцінки стану оксидантних і антиоксидантних процесів, трансаміназ, ендогенної інтоксикації, системи оксиду азоту за визначенням вмісту дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, активності супероксиддисмутази, каталази, аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, молекул середньої маси, еритроцитарного індексу інтоксикації, стабільних метаболітів оксиду азоту, сумарної активності NO синтаз, L-аргініну в крові і міокарді;

- математичні – опрацювання цифрових даних за методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стюдента.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше показано патогенетичні особливості змін процесів ліпопероксидації і антиоксидантного захисту, активності трансаміназ, ендогенної інтоксикації і системи оксиду азоту в крові і міокарді та доведена їх активна участь в патогенезі розвитку адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу.

Уперше встановлено, що адреналінове пошкодження міокарда і іммобілізаційний стрес спричиняє активізацію оксидантних процесів на усіх періодах їх розвитку на тлі пригнічення антиоксидантної системи з формуванням оксидантного стресу особливо на 5-у добу експерименту.

Уперше з'ясовано, що поєднана патологія (адреналінове пошкодження міокарда і іммобілізаційний стрес) викликає посилення ендогенної інтоксикації впродовж усіх етапів їх формування з домінуванням на 1-у добу експерименту.

Уперше визначено, що на усіх етапах спостереження відбувалося стабільне зростання активності трансаміназ в крові з перевагою на 1-у добу формування адреналінової міокардіопатії і стресу.

Уперше показано, що впродовж усіх періодів розвитку адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу спостерігалось підвищення вмісту вторинних метаболітів оксиду азоту і сумарної активності NO синтаз на тлі зниження рівня L-аргініну в крові і міокарді, що були найбільше виражені на 5-у добу експерименту.

Уперше доведено коригуючий вплив L-аргініну на порушені маркери метаболічних процесів за умов формування адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані нами результати досліджень розширюють та поглиблюють існуючі знання про механізми розвитку адреналінової міокардіопатії і іммобілізаційного стресу

і можуть бути використані в подальшій науково-дослідній роботі і в навчальному процесі.

Коригуючий вплив L-аргініну на порушені показники метаболічних процесів вказує на доцільність його подальшого вивчення і застосування в клініці за умов формування адреналінового пошкодження міокарда і іммобілізаційного стресу та розробки методичних рекомендацій.

Результати дослідження впроваджені в навчальний процес на кафедрі патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету, Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, Львівського національного медичного університету імені Д. Галицького, ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”, кафедрі анатомії, фізіології та патології Львівського медичного інституту, що підтверджено актами впровадження.

Особистий внесок здобувача. Здобувач, самостійно відповідно до поставленої мети і завдань дослідження, опанував методики досліджень, провів експерименти, здійснив статистичне опрацювання отриманих результатів, виконав літературний огляд. За темою роботи написав дисертацію. Разом з науковим керівником сформулював висновки. Дисертаційна робота є особистою науковою працею здобувача. У наукових працях, опублікованих в співавторстві, а також в актах впровадження, які стосуються науково-практичної новизни, викладено дані, що отримані автором в процесі виконання дисертаційної роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи оприлюднені на: міжнародній науково-практичній конференції «Technology transfer: innovative solutions in medicine» (Estonia, 2018), міжвузівській науково-практичній конференції молодих учених та студентів з міжнародною участю «Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку та корекції патологічних станів» (Харків, 2019), міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні тенденції у медичних та

фармацевтичних науках» (Київ, 2020), міжнародній науково-практичній конференції «Перспективні напрямки розвитку сучасних медичних та фармацевтичних наук» (Дніпро, 2021).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи надруковано 10 наукових праць. З них 6 статей: 4 статті у фахових виданнях, 1 стаття – у виданні внесеному до науково-метричної бази Scopus, 1 стаття в іноземному періодичному виданні та 4 тези у матеріалах науково-практичних конференціях.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 185 сторінках комп'ютерного тексту (основний обсяг становить 126 сторінок), містить вступ, 7 розділів, висновки, список використаних джерел (всього 214 бібліографічних понять), додатки. Робота ілюстрована 36 таблицями, 20 малюнками. Бібліографічний опис літературних джерел та додатки викладені на 33 сторінках.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО РОЗПОВСЮДЖЕННЯ, ПРИЧИНИ ТА МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ІШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ ТА СТРЕСУ. ХАРАКТЕРИСТИКА ДОСЛІДЖУВАНОВОГО ЛІКАРСЬКОГО СЕРЕДНИКА L-АРГІНІНА (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Епідеміологія, патогенез розвитку стресу

За останні декілька десятиліть спостерігається прискорення темпів життя людини, науково-технічна революція та інші чинники зумовлюють вплив на організм людини і тварин різних стресів. Доцільно зазначити, що надмірна і тривала дія стрес-чинників, стрес- реакція може стати основою для розвитку хвороб [3, 87, 88, 132, 136, 137, 148].

Відомо, що стрес — неспецифічна реакція організму у відповідь на сильну дію подразника ззовні, яка перевищує норму, а також відповідна реакція нервової системи. Термін «стрес» у фізіологію та психологію вперше ввів у 1932 р. Уолтер Бредфорд Кеннон у своїх класичних роботах з універсальної реакції «боротись чи втікати» [6, 22, 49].

Досить часто авторство терміна приписують відомому канадському фізіологу Гансу Сельє, проте використовувати саме поняття «стрес» він почав лише у 1946 р. для пояснення загальної адаптаційної напруги [3, 6].

Залежно від тривалості стресових ситуацій виділяють гострий та хронічний стрес. Найвищим ступенем гострого стресу є шок. У ході стресової реакції відбувається активація симпато-адреналової системи, що стимулює вироблення та вивільнення реніну нирками. Підвищення концентрації катехоламінів у крові, активація альфа1- та бета-адренорецепторів призводить до підвищення тонуусу артеріол та частоти

серцевих скорочень, що в поєднанні з високим рівнем реніну призводить до підвищення артеріального тиску [49, 50, 51].

Так, у ході досліджень встановлено прямий ефект стресу на рівень середньодобового артеріального тиску та частоти серцевих скорочень [52, 53].

Останніми роками поняття «стрес» набуло значної популярності – тому минуле ХХ ст. назвали століттям стресу. Прийшло ХХІ століття, і стрес, не визнаючи жодних кордонів, з легкістю перейшов у нове тисячоліття і продовжує зміцнювати свої передові позиції у розвитку захворювань. Сучасна людина постійно живе на межі стресу. Забруднення довкілля, швидкий режим міського життя, агресивне соціальне середовище, тощо, постійно спонукають людину до перебування в стані психоемоційного напруження. Так, за даними популяційних статистичних досліджень, 90 % населення США постійно перебувають у стані сильного стресу, причому 60 % відчують стрес 1–2 рази на тиждень, а 30 % – майже щодня. Приблизно 70 % росіян постійно знаходяться у стані стресу, а третина всього населення країни – в стані сильного стресу. В країнах Європейського Союзу із 147 млн. працездатного населення 40 млн. страждають від стресів, і це щороку обходиться суспільству в 19 млрд. доларів США [3, 49, 132].

Враховуючи реалії політичного та економічного життя України, кількість людей, котрі перебувають у стані стресу, має бути не меншою, ніж у США та Росії.

За оцінками фахівців, від різних нервово-психічних розладів страждає кожний третій українець. Інвалідизація від психосоматичних захворювань вийшла на друге місце серед інших нозологій.

Сьогодні стрес розглядається як неспецифічна реакція організму, що виникає на дію зовнішніх і внутрішніх подразників і реалізується як необхідна ланка індивідуальної адаптації організму до середовища.

Формування іммобілізаційного стресу супроводжується активацією систем протеолізу, перекисного окиснення ліпідів, зниженням активності антипротеїназного і антиокислювального потенціалу та залученням центральних і периферичних регуляторних механізмів [105].

За дії стресу відбувається накопичення в крові продуктів вільно радикального окиснення та активних форм кисню, зниження буферної ємності крові відносно підтримання оптимальних параметрів інтенсивності вільно радикальних реакцій та перш за все зростають стресові гормони, зокрема адреналін [3, 6, 132, 204].

Гостре адреналінове ушкодження міокарда зумовлює розлади серцевої діяльності, які проявляються у зниженні його помпувальної функції, що призводить до зменшення хвилинного об'єму серця [73].

Найбільше рівень адреналіну зростає у крові та міокарді при його ішемії з гіпоксією, унаслідок стресу, що призводить до ішемічної хвороби серця. Таку шкідливу дію стресу та адреналіну на міокард можна пояснити такими їх ефектами: здатністю активувати процеси перекисного окиснення ліпідів, накопиченням іонів кальцію, пригніченням захисту організму [82, 114, 132, 133].

При стресі зростає рівень активних форм кисню, підвищується інтенсивність ПОЛ, а токсична дія вільнорадикальних продуктів призводить до структурних та метаболічних порушень у клітинах організму [1, 2, 92, 116, 148].

У літературі мало даних про ступінь ендогенної інтоксикації при іммобілізаційному стресі в щурів. Подібні дослідження проводила група вчених під керівництвом J. O. Vieira, які вивчали фізіологічні, соматичні та поведінкові зміни, спричинені щоденним впливом того ж типу стресорів (гомотипних) або різних аверсивних стимулів (гетеротипних) у самців і самок щурів. Визначені зміни серцево-судинної функції та вегетативної активності, викликані обома стресорами, супроводжувалися порушенням

барорефлекторної активності у самців, але не у самок. Обидва хронічні стресори зумовлювали зміни в реакції артеріального тиску на судинозвужувальні та судинорозширювальні засоби обох статей. Оці результати узяті разом, показують, що незалежно від хронічного режиму стресу самки більш вразливі до соматичних ефектів хронічних стресорів. Встановлено, що стресовий вплив призводить до підвищення концентрації кінцевих метаболітів оксиду азоту в сироватці крові та гомогенатах серця і головного мозку тварин, інтенсифікації процесів пероксидного окиснення ліпідів і мітохондріальної дисфункції в цих органах [101, 102, 103, 109, 138, 207].

Стрессова реакція супроводжується фазними змінами імунної системи, вираження яких має індивідуальні особливості. У ранньому періоді гострого стресу спостерігається зниження антиінфекційного та протипухлинного імунітету, а далі настає фаза короткочасної гіперреактивності імунної відповіді (характерна для розвитку аутоімунних та алергічних хвороб) [3, 6, 89, 111].

Дослідниками доведено, що хронічний стрес зумовлює розвиток набутого імунодефіциту, який може дати поштовх до формування онкологічних, аутоімунних, алергічних захворювань або загострення хронічної патології, припинення стресогенного впливу на певному етапі може викликати відновлення імунної системи [3, 6, 52].

Сам термін «стрес» з'явився відносно нещодавно, а саме в 1946 році «з легкої руки» лауреата Нобелівської премії Ганса Сельє. Він досить швидко вийшов за межі вузько біологічного трактування і набув широкого використання як у науці, так і на побутовому рівні. Саме за допомогою слова «стрес» ми зазвичай пояснюємо свої помилки або неадекватні дії під час виникнення труднощів, гострі емоційні реакції, а також відчуття повного виснаження, втоми, і навіть хвороби. Існують кілька близьких за змістом визначень терміну «стрес» [132, 148].

«Стрес» – це стан напруження, що виникає у людини під впливом сильних подразників.

«Стрес» – це неспецифічна захисна реакція організму у відповідь на несприятливі зміни навколишнього середовища. Г. Сельє з'ясував, що стрес у своєму перебігу має три стадії, що розгортаються як єдиний процес: стадія тривоги; стадія резистентності (адаптації) та стадія виснаження. Роботу нашого організму в період виникнення стресу можна порівняти з фортецею в облозі. На її захист спрямовано всі наявні ресурси, проте настає час, коли вони вичерпуються. Або ворога буде розбито і облогу знято, або фортеця здасться. Саме в цьому випадку і виникають хвороби стресу [3, 52].

Стрес у межах перших двох стадій («евстрес») є навіть корисним для організму. Це стрес, викликаний позитивними емоціями, або «несильний стрес, який мобілізує організм». Якщо ж захисних сил організму бракує, настає стадія виснаження адаптаційних резервів, що може призвести до низки психічних і психосоматичних розладів («дистрес»). Дистреси виникають не лише при дії тяжких та дуже тяжких стресорів, а часто при тривалих довгодіючих стесових навантаженнях, через поступове виснаження організму, його життєвих резервів і захисних сил.

Існування специфічного компонента стресових реакцій має свою відмінність та дає змогу розрізнити окремі види стресу. Розрізняють два основних класи стресових реакцій: фізіологічні стреси (або соматичні, фізичні, середовищі) і психоемоційні, психосоціальні стреси [3, 132].

На даний час в медичному світі гостро стоїть проблема поєднаної патології. Труднощі діагностики, особливо на початковому етапі захворювання, взаємнообтяжуючий клінічний перебіг і, як наслідок, труднощі лікування – головні риси, притаманні поєднаній патології. Особливо часто трапляється поєднання стресу з іншими захворюваннями. Окрім того, у наш час складно знайти людину, яка не стикалася з проявами серцево-судинних захворювань, особливо в екологічно несприятливих

промислових регіонах України. В останні десятиліття багато досліджень показали взаємозв'язок між нервовою, та серцево-судинною, дихальною, ендокринною системами [127, 175].

Механізми функціонування цих систем у різних процесах мають загальні закономірності та компоненти, які не дозволяють їм діяти незалежно один від одного та дозволяють їм один одного регулювати.

Незважаючи на значні наукові розробки, які ведуться в цьому напрямку, система крові відіграє основну роль в адаптаційних реакціях організму до стресових впливів різного генезу, оскільки вона є органом-мішенню для «адаптаційних» гормонів. На цю систему припадає велика частина клірингових процесів, також система крові впливає на стан інших систем [106, 107, 176, 177].

Отже, система крові та міокард є оптимальними органами для вивчення різних ефектів, що реалізуються в зв'язку зі станом стресу і запальними процесами за типом реакції гіперчутливості негайного типу.

При великій силі й тривалості дії стресового чинника стрес- реакція може перетворитися з ланки адаптації в ланку патогенезу багатьох захворювань, серед яких і хвороби серцево-судинної системи. Важливу роль у формуванні стійкої адаптації відіграє стрес- реакція, що забезпечується, насамперед, мобілізацією енергетичних і структурних ресурсів організму та їхнього векторного перерозподілу в бік переважного забезпечення систем, відповідальних за адаптацію до окремого чинника, а також прямою дією стресорних гормонів і медіаторів на метаболізм і функцію клітин системи або органа- мішені.

У процесі розвитку стійкої адаптації порушення гомеостазу, які є стимулом стрес-синдрому, поступово зникають, як і самий стрес- синдром, що відіграє свою помітну роль у становленні адаптації. Такий стан між стресом (агресією) та адаптацією слід вважати, що стрес склався у процесі

еволюції як необхідна неспецифічна ланка більш складного цілісного механізму адаптації [108, 110].

Ганс Сельє своїми численними роботами, а також його послідовники встановили, що саме в гіпоталамусі запускається основний гормональний механізм у реалізації стрес-реакції, проходять складні нейрогуморальні процеси [15, 75, 76].

При розвитку початкового періоду стрес-реакції ключову роль відіграє симпато-адреналова система, яка є одним із пускових механізмів збільшення секреції гормонів гіпофіза. Під час дії на людину психоемоційних факторів збільшується концентрація катехоламінів у сечі і крові, що є найбільш чутливим тестом стрес-реакції.

Проте, включення системи гіпофіз – кора наднирників, не завжди відбувається при стресових ситуаціях [3, 6, 14, 132].

З літературних джерел відомо, що стрес проходить три послідовні стадії: реакцію тривоги, стадію резистентності та стадію виснаження. Реакція тривоги – це негативна мобілізація захисних сил організму, яка складається з фази шоку і проти шоку. Фаза шоку характеризується гіпотонією м'язів і артеріальною гіпотензією, гіпотермією, гіпоглікемією, згущенням крові, підвищенням проникності стінки капілярів. У фазі проти шоку спостерігається зміни у зворотньому напрямку – підвищення артеріального тиску, м'язового тону, вмісту глюкози у крові, а також стійким підвищенням секреції кортикотропіну і кортикостероїду.

Друга стадія резистентності характеризується: мобілізацією енергетичних ресурсів, збільшенням синтезу структурних і ферментативних білків, мобілізацією імунної системи. У цей період гіпертрофується кіркова речовина надниркових залоз і виділяється значна кількість гормонів, активуються анаболічні процеси, посилюється гліконеогенез. Власне у цій стадії організм набуває неспецифічної та специфічної резистентності [3, 6, 14, 15].

За умови тривалого впливу пошкоджуючого чинника адаптація порушується. Це спричиняє суттєве зниження функціональних резервів та атрофія кіркової речовини надниркових залоз, розвивається гіпотензія, розпад білкових речовин призводять до переходу стадії резистентності у третю стадію - виснаження.

Показано, що під дією стресу розвиваються кардіопатії. Вплив гострого стресу на ендотелій ендокарда та мікроциркуляторного русла міокарда спричиняє зростання активності простагліцинів- і тромбоксансинтезуючої систем, збільшення вмісту в клітинах вільного холестерину і вільних жирних кислот, утворенням ендотеліальних тілець та повною десквамацією окремих ендотеліоцитів.

Меєрсон Ф.З. вважав, що при стресі відбувається пряме пошкодження стінки аорти перекисями ліпідів [18, 75, 76].

За умов розвитку стресу NO регулює судинний тонус, розслаблює гладкі м'язи, знижує периферичний опір, збільшує кровотік, який призводить до зменшення турбулентності і підвищує проникливість судинної стінки. Під час розширення судин поступово знижується стресовий стан і слідом за ним зменшується продукція NO [1, 20, 21, 115, 128].

Надзвичайно суттєві зміни активності протеаз є в тканинах аорти, вони спостерігаються при іммобілізаційному стресі і характеризується зростанням трипсиноподібної та пептидилглютамін- пептидгідролазної активності [18, 19, 21, 38].

Ф.З. Меєрсон разом зі своїми учнями розробив концепцію, яка полягає у тому, що природним чинником обмеження прояву стрес- реакції є стрес-лімітуючі системи організму. Вона полягає у тому що, при стресі разом з активацією стрес реалізуючих систем спостерігається й активація стрес-лімітуючих систем, що проявляється обмеженням вироблення

катехоламінів, глюкокортикоїдів та інших чинників і сприяє захисту від надмірних і руйнівних ефектів їх дії [75,76].

У цьому контексті найбільш ефективною є активація ГАМК-ергічної, опіатної та антиоксидантної систем. Показано, що збільшити потужність цих систем і модулювати їх.

Активність можливо двома шляхами: адаптацією організму до чинників середовища і зовнішнім введенням лікарських препаратів.

При цьому патологічні процеси, що виникають в організмі в цілому та органах дихання зокрема, є наслідком нездатності адаптаційних механізмів протидіяти несприятливим факторам середовища. На вплив цих факторів організм може реагувати формуванням сприятливих (спокійна та підвищена активація), або несприятливих адаптаційних реакцій (стрес, гіперактивація, неповноцінна адаптація) [3, 18, 19, 76].

Існування окремого типу загальної неспецифічної адаптаційної реакції – реакції неповноцінної адаптації, яка є фоном для будь-якої патології та має власні особливості змін у нервовій, ендокринній, імунній системі, параметрах гомостазу та запалення, було обґрунтовано у наукових працях останнього часу [3, 53, 202].

Вивчення стресу, як реакції живого організму на будь-які зміни в навколишньому середовищі показало, що він є глобальним механізмом мобілізації внутрішніх резервів для подолання різних перешкод, що виникають протягом життя [18, 19].

Відомо, що стрес спричиняє розвиток інволюційних процесів у тимусі, функціональний стан якого і визначає активність імунної системи організму.

У цих умовах зростає доцільність використання фармакологічних засобів адаптогенної дії, які виявляють стреспротективні властивості, запобігають розвитку ушкоджень органів і систем організму, які спричинені

посиленням катаболічних процесів та підвищують активність імунної системи з метою підтримки опірності організму [149].

1.2. Епідеміологія, причини і механізми формування ішемічної хвороби серця

Серцево-судинна патологія вивчається багатьма вітчизняними та закордонними науковцями, оскільки ця недуга продовжує займати перші позиції у структурі смертності та захворюваності населення не тільки України, а й більшості країн світу [7, 8, 25, 119, 120].

Складність цієї проблеми в більшості випадків пов'язана зі стрімким зростанням темпів життя, механізації, автоматизації та урбанізації суспільства, що призводить до хронічного впливу стресу, як фактора ризику []. Цим і пояснюється значний інтерес до вивчення механізмів розвитку стресогенного пошкодження серця, а також пошуків раціональних методів та засобів їх лікування і профілактики [25, 121, 122]

Ішемія міокарда (ІМ) – найпоширеніша хвороба, на яку страждає значна частина населення і яка є найчастішою причиною смерті в світі. Незважаючи на значні успіхи у лікуванні цієї хвороби, розробку багатьох фармакологічних препаратів та втілення сучасних засобів терапії, серцева патологія залишається серйозною проблемою людства.

Кількість людей з серцево-судинними захворюваннями становить близько 25 мільйонів, а щорічно помирають від ІХС понад 7,4 мільйонів осіб, що становить 13,2 % від усіх смертей.

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я у країнах Європи від цього захворювання помирають кожен шостий чоловік і кожна сьома жінка [40, 123, 40].

Серцево-судинні захворювання, переважно ішемічна хвороба серця та інсульт, є основними причинами смертності й одними з основних факторів інвалідності в усьому світі [40, 171].

Тягар серцево-судинних захворювань продовжує зростати протягом десятиліть майже у всіх країнах із середнім і низьким рівнем доходу. Викликає тривогу і той факт, що стандартизований за віком показник серцево-судинних захворювань почав рости в деяких країнах із високим рівнем доходу, де раніше він знижувався.

Хвороби системи кровообігу (ХСК) є причиною смертей 3,8 млн. осіб на рік, що складає 45% загальної смертності. Багато років поспіль лідером з причин смертності населення в усьому світі є ішемічна хвороба серця (ІХС) – 1,7 млн. осіб на рік. В Україні в структурі смертності від ХСК найбільший відсоток припадає на ІХС – 68,8% (станом на 2018 р.). Частка смертності осіб працездатного віку складає 6,9% – від ІХС 18,9% – від інфаркту міокарда [125, 126].

Виявлення випадків серцево-судинних захворювань майже подвоїлося з 271 мільйона в 1990 році до 523 мільйонів у 2019 році, а кількість смертей від серцево-судинних захворювань неухильно збільшувалася з 12,1 мільйона в 1990 році до 18,6 мільйона у 2019 році.

В Україні серцево-судинні захворювання є головною причиною смертності населення. За цим показником наша країна лишається одним зі світових лідерів. У національному масштабі смертність від серцево-судинних захворювань за останні 29 років зросла майже на 8 %: до 449 376 у 2019 році і складає 64.3 % від загальної кількості смертей, тоді як у 1990 році зафіксували 350 605 смертей від серцево-судинних захворювань, що склало 56.5 % відповідно [23, 25, 28, 29].

У гендерному аспекті поширеність ІХС у світі останні 25 років коливається в межах від 12,4% до 15,9% у чоловічій та від 17,9% до 16,4% у жіночій популяції. Серед міських та сільських чоловіків поширеність ІХС

складає 12,4% та 5,5%, серед міських та сільських жінок, відповідно – 13,7% та 9,7%. Поширеність ХСК у жінок станом на 2018 р. була у 1,3 більше, ніж у чоловіків. За останнє десятиріччя смертність від ХСК у жінок збільшилася на 14% [12, 25, 49, 50, 140].

Тривалість тимчасової непрацездатності від ІХС коливається від 14 до 50 днів, у середньому 30 днів [33, 34, 95].

Відомо, що ішемічна хвороба серця (ІХС) - гострий або хронічний патологічний процес у міокарді, зумовлений його неадекватним постачанням кров'ю внаслідок органічного пошкодження вінцевих артерій, значно рідше — їхніх функціональних змін (спазм, недостатність кровообігу в разі збільшення навантаження) [29, 30, 31].

Вона займає одне з провідних місць серед причин захворюваності і смертності, спричиняє періоди непрацездатності, викликає цілий ряд ускладнень, тому має як соціальне так і економічне значення [5, 6, 12, 191].

Попри лікувально-профілактичні заходи, статистика із захворюваністю та смертністю від ІХС залишається невтішною [80, 81].

Протягом січня 2020 року в Україні від ІХС померло 25 053 особи. Якщо взяти період часу від січня до вересня 2020 року в Україні від ІХС померло 177 397 осіб. У популяції зростає питома вага факторів ризику ІХС – підвищений артеріальний тиск, стрес, тютюнопаління, рівень цукру у крові, гіподинамія, ожиріння, що погано піддаються модифікації через суб'єктивні та соціо-економічні причини [16, 17, 35, 83, 94, 186, 190].

Література вказує на те, що у розвитку ССЗ відіграє роль багатьох чинників. Цілий ряд науковців стверджують, що причинами виникнення ССЗ, такі як надлишкова маса тіла, паління, гіподинамія, стреси, гіпертонічна хвороба, цукровий діабет, надмірне споживання алкоголю, гіперхолестеринемія, атеросклероз коронарних артерій, обтяжена спадковість, переважають чоловіки, вік. А саме, деякі дослідження констатують про те, що збільшення ризику розвитку інфаркту міокарда на

40 % в результаті паління 1-5 сигарет щодня. Також відомо, що ця шкідлива звичка здатна протидіяти ефекту вторинної профілактики – прийом статинів, аспірину [10, 11, 13, 16, 37, 80, 180, 181, 182, 192, 193].

На сьогодні, суттєву роль відводяться іншим показникам, зокрема вивчення – високочутливого С-реактивного протеїну (вчСРП), інсулінорезистентність (ІР) і гіперінсулінемія, фактор некрозу пухлин- α , тригліцериди (ТГ), адипонектин, неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), гамаглутамілтранспептидаза (ГГТП), лептин, фібриноген, сечова кислота (СК), гомоцистеїн, інтерлейкін-6, мікроальбумінурія, аполіпопротеїн А [90, 96, 97, 98, 173, 178, 179, 194, 212, 213].

Здебільшого описуються в літературі випадки ІХС, інфаркту міокарду, які викликані метаболічними і токсичними пошкодження міокарду. Практичні лікарі, кардіологи та інші не завжди приділяють їм належну увагу. Дія стресових факторів, зумовлює гіперкатехоламінемією, активацією процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), порушенням кальцієвого гомеостазу, можуть викликати у тканині міокарда класичні патологічні зміни, які здебільшого призводять до формування фіброзу міокарда [84, 86, 94, 172, 173, 174, 189, 197, 198, 199].

Ряд досліджень вказують на те, що стрес психоемоційний, як і стрес фізіологічний, викликає хвилеподібну активацію вільнорадикального окислення в крові і тканинах, зокрема в тканинах головного мозку. Нетривалий окислювальний підйом спостерігається вже в перші хвилини стресу, потім він зменшується і зникає (внаслідок реактивної активації антиоксидантних систем), а вторинний підйом проходить на 2-4-му тижні важкого хронічного стресу з явищами виснаження. У мозку уповільнюється локальний кровоток в лімфіко-ретикулярних структурах, розвиваються структурні пошкодження в гіпокампі, гіпоталамусі, мозковій корі. Окислювальний стрес відіграє провідну роль в стресорному ушкодженні міокарду і ендотелію кровоносних судин. Хронічний психоемоційний стрес

зумовлює тривалу пероксидацію ліпідів серця, активацію ліпаз і фосфоліпаз, а також сприяє розвитку атеросклерозу судин, ішемічній хворобі серця, гіпертонічній хворобі [44, 45, 48, 49, 168, 169, 200, 214]. Важливим ризик-фактором стресорного ураження міокарду, навіть у молодих людей, є так звана поведінка типу А: вона характеризує людей надзвичайно цілеспрямованих, честолюбних, амбіційних, цілком орієнтованих на кар'єрний успіх; вони не дозволяють собі розслабитися, відпочити. Виявляється високий рівень холестерину, посилене згортання крові, рано розвивається атеросклероз і ішемічна хвороба серця, існує великий ризик інфаркту міокарду. Іншою причиною смерті при хронічному психоемоційному стресі може бути аритмія шлуночків серця як наслідок збудження вагоінсулярної системи [3, 5, 99, 142, 161, 162].

З огляду на особливості поширеності, перебігу, смертності від ХСК у чоловіків та жінок, що ґрунтуються на відмінностях гормонального метаболізму у різні вікові періоди, схильності впливу модифікованих та не модифікованих факторів ризику, тощо, вивчення стресіндукуючих аспектів ІХС є актуальним і своєчасним [20, 21, 27, 41, 48, 152, 163, 211, 203,].

Відомо, що особливу роль у патогенезі порушень метаболізму при ІМ відіграє розвиток окисного стресу (ОС), який пов'язаний з порушенням балансу між постачанням та споживанням кисню ішемізованим міокардом. Недостатність кровопостачання серця в момент часткової або повної оклюзії однієї чи декількох коронарних артерій та за підвищення рівня артеріального тиску провокує гіпоксію при ІХС. Поновлення кровоплину при ішемії/реперфузії призводить до мікроемболізації, змін у клітинах крові, набряку та судинної компресії, що спричиняє ушкодження ендотелію.

Основними етіологічними факторами ІХС є: 1) атеросклеротичне ураження коронарних артерій (у 95% хворих на ІХС виявляють переважне атеросклеротичне ураження проксимальних відділів коронарних артерій);

2) спазм коронарних артерій; 3) тромбоз коронарних артерій; 4) спадковість ускладнена чинниками, що провокують розвиток клінічних симптомів ІХС, є фізичне навантаження, стресові емоційні та психосоціальні ситуації.

У даний час однією з найпоширеніших причин ССЗ вважається розвиток атеросклерозу. В той час відбувається запальне пошкодження судинної стінки (ендотелію), що є причиною розвитку атеросклерозу. За цих умов поглинаються ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ) макрофагами [72, 73, 153]. Вважають, що спочатку атеросклерозу нагромадження Т-лімфоцитів та пінистих клітин, що має назву – ліпідна пляма. Гладком'язеві клітини перероджують атерому з ліпідної плями, а потім настає нестабільність бляшки шляхом міграція в інтиму і синтез позаклітинного матриксу. Зазначене вище погіршує структуру фіброзної капсули атерому. Потім відбувається нагромадження солей кальцію бляшкою. Це зумовлює її нестабільність і провокує мікророзриви. Відомо, що місце пошкодження служить джерелом агрегації тромбоцитів. Пізніше утворюються тромби, зазначений типовий ланцюг реакцій ускладнюється характерною присутністю медіаторів прозапального ряду – цитокінів, факторів активації тромбоцитів, хемокінів та ейкозаноїдів. Саме ці та інші медіатори стимулюють запальний процес. Це в кінцевому результаті призводить до прогресування атеросклеротичної бляшки [46, 58, 59, 60, 154].

Відомо, що психосоціальні фактори безпосередньо можуть спричиняти гострі патофізіологічні зміни в серцево-судинній системі чи підвищувати ризик виникнення ішемічної хвороби серця (ІХС) через нездоровий спосіб життя (зловживання алкоголем, куріння, низька фізична активність, незбалансоване харчування) [59, 62, 70, 71, 72, 73].

Психо- соціальний дистрес може стати тригером транзиторної ішемії міокарда, спричинити шлуночкову аритмію й раптову коронарну смерть.

Основними механізмами, через які гострий психо-соціальний стрес підвищує ризик ССЗ і смертності, є зростання частоти серцевих скорочень (ЧСС) і артеріального тиску (АТ) унаслідок активації симпатичної та зниження активності парасимпатичної нервової системи, що призводить до збільшення потреби міокарда в кисні; транзиторна дисфункція ендотелію; підвищення зсідання крові; гіперглікемія та гіперліпідемія []. Усе це зумовлює подальше потенціювання атеросклеротичного ураження судин. Ризик виникнення цукрового діабету (ЦД) 2 типу на тлі стресу зростає в 4-9 разів, ССЗ – у 2-3 рази. Вплив хронічних (щоденних) стресорів супроводжується підвищеною продукцією кортизолу, адренкортикотропного гормону з активацією гіпофізарно-тиреоїдно-надниркової системи, що зумовлює підвищення апетиту та споживання переважно жирів і цукрів, депонування вісцерального жиру, зниження елімінації жирів, виникнення надлишкової маси тіла й ожиріння [21, 46, 116].

За даними метааналізів проведених досліджень, тривога при тривалому спостереженні асоціюється з підвищенням ризику розвитку ІХС на 26-41% і ССЗ – на 52%. Тривога може збільшувати ризик виникнення інфаркту міокарда й інших гострих серцево-судинних ускладнень у пацієнтів зі стабільною ІХС на 74-109%. Механізмами реалізації розвитку ускладнень виступають такі нейрогуморальні зрушення: активація симпатичної та пригнічення парасимпатичної нервової системи, дисфункція серотонінергічної системи головного мозку й активності тромбоцитів у крові, підвищення продукції адренкортикотропного гормону та вмісту кортизолу в крові, активація метаболізму глюкози в крові й посилення кровотоку в підкоркових структурах головного мозку. Тривожні та депресивні розлади, що виникають на тлі цих зрушень, істотно впливають на прогноз пацієнтів, які перенесли гострий коронарний

синдром (підвищується рівень смертності в разі наявності депресії) [78, 79, 208, 209].

Катехоламіни є важливими нейротрансмітерами, що беруть участь у регуляції функцій серцево-судинної системи. У фізіологічних концентраціях вони стимулюють функцію та метаболізм міокарда, не викликаючи патологічних зрушень. Проте значне і тривале підвищення рівнів катехоламінів у крові призводить до порушення кардіоміоцитів. Адреналін у великих концентраціях сприяє порушенню кровопостачання, провокує метаболічний дисбаланс.

Цю модель широко використовують для дослідження некротичних процесів міокарда та протекторної дії різноманітних кардіотропних препаратів [61, 80, 206, 209].

Відновлення коронарного кровотоку після оклюзії судин – «двосічний меч», що може, з одного боку, покращити стан міокарда, а з іншого – маніфестувати додаткове ушкодження внаслідок нездатності кардіоміоцитів утилізувати збільшене надходження кисню. Це явище отримало назву «синдром реперфузії», частота якого становить близько 30 %. Гіпероксидація, в свою чергу, може ініціювати окисний стрес у клітинах міокарда за рахунок утворення надмірної кількості активних форм кисню (АФК) та розвитку дисбалансу у системі про та антиоксидантів. Окисний стрес призводить до перекисного окиснення ліпідів, порушення структури мембран кардіоміоцитів. Одночасно активується процес окисної модифікації функціонально важливих білків, зокрема, цитохромів дихального ланцюга, міоглобіну та інших структур. Так виглядає спрощена модель постперфузійного метаболічного кола розвитку і прогресування ішемічного ушкодження міокарда [2, 21, 141, 145, 146, 147, 206, 208,].

Клітинні механізми, що ініціюють продукування і потік АФК та інших радикалів і призводять до прогресування захворювання, можуть відрізнитись в залежності від типу ушкодження міокарда. Наприклад,

накопичення сукцинату під час ішемії серцевого м'язу є достатнім для того, щоб викликати масове генерування АФК шляхом індукції зворотного електронного транспорту під час реперфузії. Ця консервативна метаболічна відповідь була запропонована як критичний процес, відповідальний за ушкодження при ішемії-реперфузії, і, відтак, є перспективною терапевтичною мішенню за ішемічного захворювання серця. Проте його тривалий вплив на ішемічну кардіоміопатію чи серцеву недостатність ще не визначений [20, 21, 141].

Таким чином, аналізуючи проведений літературний огляд з етіології та патогенезу ішемічної хвороби серця можна стверджувати, що дана хвороба є поліетіологічним захворюванням, одну з провідних ролей в ній відіграють стресові фактори.

1.3. Характеристика досліджуваного лікарського середника L-аргініна

З метою корекції порушених метаболічних процесів при коморбідній патології - ІС та АПМ нами був використаний препарат L-аргінін у дозі 150 мг/кг, що виробляється ПрАТ фармацевтична фірма «Дарниця» у місті Львові, який вводили одноразово внутрішньом'язово впродовж 5 днів (з 1-ї по 5-у доби), експерименту щоденно.

Літературні джерела вказують на те, що L-аргінін широко застосовується у практичній охороні здоров'я. Цей лікарський засіб має антигіпоксичну, мембраностабілізуючу, захисну, антиоксидантну, антирадикальну, дезінтоксикаційну активність, проявляє себе як активний регулятор проміжного обміну і процесів енергозабезпечення, відіграє певну роль у підтриманні гормонального балансу в організмі [4, 39, 42, 43].

Відомо, що аргінін збільшує вміст в крові інсуліну, глюкагону, соматотропного гормону і пролактину, бере участь в синтезі проліну,

поліаміну агматину, включається в процеси фібріногеноліза, сперматогенезу, чинить мембранодеполяризуючу дію [157, 158].

L-аргінін – умовно незамінна амінокислота, яка була виділена ще у 1886 році вченими E. Schulze та E. Steiger. В організмі людини він синтезується з цитруліну (рідше – орнітину та проліну), який продукується клітинами слизової оболонки тонкого кишківника. Перетворення цитруліну на аргінін відбувається в нирках в межах циклу сечової кислоти. Добовий рівень споживання L-аргініну становить близько 5,4 г – зазвичай тієї кількості амінокислоти, синтезованої клітинами організму, якої вистачає на покриття фізіологічних потреб тканин та органів.

Однак у певних умовах (стрес, хвороба тощо) ендогенні запаси аргініну стають недостатніми, і виникає потреба його додаткового надходження в організм екзогенним шляхом – з їжею та у складі лікарських засобів [39, 155].

Визначено, що аргінін вважається дуже корисною амінокислотою, оскільки бере участь у синтезі білків та багатьох біологічно важливих молекул, є їх необхідним попередником [151, 158].

Проте однією з найголовніших функцій аргініну є здатність бути субстратом для синтезу оксиду азоту. Він утворюється з L-аргініну під впливом ферментів NO-синтаз (NOS). На сьогодні відомо декілька ізоформ NOS: нейрональна, індукцйбельна та ендотеліальна. Аргінін бере участь у процесах метаболізму: активує вуглеводний та ліпідний обмін. Відома його роль у зменшенні жирової тканини та навпаки – збільшенні м'язової. L-аргінін особливо впливає на серцево-судинну систему, оскільки здатен регулювати тонус судин (їх м'язової стінки), окрім цього, відома його антитромботична та антиатеросклеротична дія, гіпотензивний та антиішемічний ефекти. Отже, універсальність цієї амінокислоти та особливості впливу на організм підтверджують необхідність підтримання його постійної концентрації в організмі людини [155, 156, 164].

Мета-аналізом, проведеним у 2009 році V. Bai та співавторами, було вивчено дані 13 рандомізованих досліджень щодо впливу перорального прийому L-аргініну на функціональний стан ендотелію судин. В кожному із 13 досліджень пацієнти з гіперхолестеринемією, стабільною стенокардією, хронічною серцевою недостатністю або хворобами периферичних артерій отримували L-аргінін в дозі 3–24 г на добу протягом періоду від 3 днів до 6 місяців. В результаті прискіпливого аналізу даних було виявлено, що навіть нетривалі курси прийому L-аргініну значно покращують функцію ендотелію, яка оцінювалася за посиленням ендотелійзалежної вазодилатації на плечовій артерії – оригінальний фармакологічний препарат широкого спектра дії, який здобув визнання в різних галузях медицини [165, 166].

Дуже цікавим є дослідження, яке було проведено у 2015 році Jingwen Wang та співавторами, яке мало на меті вивчити, чи впливає рівень концентрації L-аргініну в крові вагітних жінок на виникнення у них артеріальної гіпертензії [167, 195].

Виявлено, що поруч з такими факторами, як надмірна маса тіла перед вагітністю та перші пологи, низький рівень L-аргініну також може викликати ймовірний розвиток гіпертензії вагітних.

У пошуках нових ефективних засобів для лікування серцево-судинних хвороб N.W. Rajapakse та співавтори у 2015 році вивчали вплив L-аргінін-залежного синтезу NO на перебіг кардіоренального синдрому. Цим дослідженням доведено, що існує зв'язок між рівнем L-аргініну та його впливом на синтез NO і розвитком кардіоренального синдрому, що відкриває нові можливості для лікування та профілактики серцевої та ниркової недостатності шляхом впливу на синтез NO [39, 196].

В рамках досліджень у психосоматичній галузі медицини Mommersteeg M.C Paula та співавтори провели дослідження, яке вивчало вплив порушення регуляції синтезу NO на депресивний стан у пацієнтів із

серцевою недостатністю. Дані цього дослідження було отримано під час 12-місячного обстеження 104 пацієнтів із серцевою недостатністю, у яких визначали рівень NO-регуляторів (L-аргінін, асиметричний диметиларгінін, симетричний диметиларгінін), показників оксидативного стресу та ознак депресії [39].

Як результат було визначено, що низький рівень співвідношення L-аргініну до асиметричного диметиларгініну (L-arginine/ADMA) провокують NO-залежну ендотеліальну дисфункцію та супроводжуються ознаками депресії [5, 69, 155, 164].

Такий стан організму, коли депресивні розлади супроводжують серцево-судинні хвороби, сприяє подальшому розвитку серцевої недостатності та погіршує прогноз.

Отже, в ході численних сучасних досліджень доведено, що L-аргінін здатен впливати на серцево-судинну систему, проявляючи кардіопротекторні властивості, а також попереджувати виникнення хвороб серця та судин і покращувати якість життя пацієнтів.

Таким чином, підводячи підсумок результатів огляду літератури, можна констатувати, що ішемічна хвороба серця, як і психосоматичні розлади і стреси є досить розповсюдженими захворюваннями в кардіологічних, неврологічних і психіатричних клініках, призводячи до періодів непрацездатності та інвалідності і навіть до смерті. Тому вони мають не лише соціальне, але й економічне значення. Проте не дивлячись на сучасні досягнення медичної науки і фармації, кардіології та неврології, патогенез розвитку АПМ і стресу, особливо в їх поєднаному вигляді є до кінця нез'ясованим.

Недостатньо вивченими є особливості змін показників процесів ліпопероксидації і АОС, ендогенної інтоксикації, системи оксиду азоту, трансаміназ в крові і міокарді в динаміці формування цих модельованих процесів у тварин та шляхи їх корекції за допомогою препарату L-аргініну.

Це ще раз підкреслює актуальність теми та потребує проведення подальших як експериментальних і клінічних досліджень, з метою вивчення нових ланок патогенезу та на основі одержаних результатів дослідження обґрунтовується патогенетична терапія за умов розвитку АПМ і ІС.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Лабораторні тварини, їх розподіл на групи. Обґрунтування етапів проведення експериментальних досліджень та застосування препарату L-аргініну.

Відповідно до мети і завдань дисертаційної роботи були проведені експериментальні та біохімічні дослідження на білих щурах (самцях) лінії Вістар, які є класичним об'єктом для моделювання і вивчення запальних процесів та серцево-судинних захворювань, ІС.

Експериментальні дослідження проводились на 110 білих щурах (самцях), лінії Вістар, масою тіла 0,18-0,2 кг, що утримувалися на стандартному раціоні віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Ці експерименти, які описані в дисертації були проведені згідно принципів біоетики у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001), що підтверджено заключенням членів комісії з біоетики ЛНМУ ім. Д. Галицького (протокол № 02 від 17 лютого 2020 р., протокол №08 від 26 вересня 2022 р.).

Білі щурі розподіляли на п'ять груп:

перша – інтактні тварини (10) – контроль;

друга (дослідна) група, яка містила три підгрупи (по 10 тварин), (30) з ІС відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби експерименту (до лікування);

третя (дослідна) група, яка містила три підгрупи (по 10 тварин), (30) з АПМ відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби експерименту (до лікування);

четверта (дослідна) група, яка мала три підгрупи (по 10 тварин), (30) з поєднаною патологією ІС та АПМ відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби експерименту (до лікування);

п'ята (дослідна) група – (10) – білі щурі з ІС та АПМ на 5-у добу експерименту після лікування препаратом L-аргініном, який вводили внутрішньом'язово у дозі 150 мг/кг впродовж 5 днів (з 1-ї по 5-у доби).

Тварин декапітували на 1-у, 3-у і 5-у доби розвитку АПМ і ІС окремо і разом під ефірним наркозом і забирали кров і міокард для проведення біохімічних досліджень до та після корекції L-аргініном.

Вибрані нами фіксовані доби (1-а, 3-я та 5-а) розвитку АПМ і ІС окремо та у їх поєднанні були обумовлені відповідно до стадій перебігу (1-а, 3-я – стадія тривоги, 5-а – стадія резистентності стресу). Стосовно АПМ (1-у, 3-ю і 5-у доби) відзначається тенденція до зростання кількості некротизованих кардіоміоцитів, збільшується парез судин, наростає інтенсивність дифузної клітинної інфільтрації строми [30, 31, 32].

Дисертація виконана в три етапи з урахуванням завдань, які поставлені у даній науковій роботі та формування патогенезу іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда до та після використання препарату L-аргініну.

Перший етап дослідження був виконаний із визначенням патогенетичних особливостей порушень прооксидантної і антиоксидантної систем в крові при ІС та АПМ в динаміці їх формування (1-а, 3- і 5-а) до та після корекції L-аргініном, оскільки насамперед на нашу думку був залучений один з пускових механізмів розвитку цих експериментальних моделей хвороб оксидний стрес, а далі поетапно активувалися процеси ендогенної інтоксикації, а згодом і були залучені зміни системи NO, що власне нами вивчалось.

Відповідно другим етапом були проведені дослідження і з'ясовані закономірності змін показників ендогенної інтоксикації та активності трансаміназ при ІС та АПМ до та після застосування L-аргініну.

Третій (кінцевий) етап наших досліджень був присвячений вивченню особливостей порушень стану системи NO при ІС та АПМ до та після використання препарату L-аргініну.

З метою корекції виявлених порушень прооксидантних і антиоксидантних процесів, ендогенної інтоксикації і метаболізму продуктів системи NO при експериментальних ІС та АПМ був застосований препарат L-аргінін з 1-ї по 5-у доби цих моделей хвороб, оскільки у зазначені нами періоди відбувалися суттєві зміни метаболізму. Крім цього обов'язково враховували те, що цей препарат має антиоксидантні, ендотелійпротекторні, протизапальні властивості, тощо.

Умовно виділяли два періоди формування коморбідної патології - ІС та АПМ: ранній (1-а і 3-а доби) і пізній (5-а доба) для того, щоб обґрунтувати і раціонально описати отриманий цифровий матеріал в дисертації.

2.2 Експериментальні моделі хвороб

2.2.1 Модель адреналінового пошкодження міокарду [73].

Гостре адреналінове пошкодження міокарда відтворювали шляхом одноразового внутрішньом'язового уведення 0,18% розчину адреналіну гідротартрату ("Дарниця", Україна) в дозі 1 мг/кг [73].

2.2.2 Модель експериментального іммобілізаційного стресу за методом Горизонтова П.Д., Белоусова О.И., Фетодова М.И. [26].

Експериментальний іммобілізаційний стрес відтворювали у щурів з використанням моделі Н. Selye - нервово-м'язового напруження (іммобілізація тварин на операційному столику на спині протягом 3 год.).

2.3 Одержання гомогенатів серця у щурів

У тварин забирали шматочки міокарда шляхом висічення через 1-2 хв. після забою тварин. Впродовж 5-6 хв. їх зберігали на льоді, а згодом обезкровлювали багаторазовою перфузією охолодженим фізіологічним розчином за допомогою голки і шприца, і дрібчасто подрібнювали ножицями.

Подрібнену тканину зважували і поміщали у скляний гомогенізатор з тефлоновим пестиком (МРТУ-42 1505-63). Склянку гомогенізатора поміщали у мішечок з кусочками льоду під час гомогенізації для попередження нагрівання. Здійснювали гомогенізацію тканини впродовж 30-50 с, роблячи декілька рухів склянкою вгору і вниз; швидкість обертання пестика 800-900 об./хв. Для гомогенізації середовищем був охолодений 5 мМ трис-НСL буфер рН 7,4, і кінцеве розведення гомогенату становило 1:9.

Одержаний тканинний гомогенат фільтрували через 2 шари марлі в пробірки для центрифугування. Для одержання щільної фракції і видалення не повністю зруйнованих клітин і ядер гомогенат центрифугували 10 хв при 3000 g ($t=0\pm 2$). Використовували надосадову рідину під час досліджень [104].

2.4 Методи дослідження

2.4.1 Біохімічні методи дослідження

2.4.1.1 Визначення активності каталази проводили за методом Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. [77].

Каталазу в крові визначали реакцією запуску з додаванням 0,1 мл сироватки крові до 2 мл 0,03% розчину перекисі водню. У контрольну пробірку замість сироватки крові вносили 0,1 мл дистильованої води ($\text{d H}_2\text{O}$). Реакцію зупиняли через 10 хв. додаванням 1 мл 4% молибдата аммонія. Інтенсивність розвинутого забарвлення вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 410 нм проти контрольної проби, у котру замість перекисю водню вносили 2 мл води.

Активність каталази сироватки розраховували за формулою:

$$E = (A_{\text{хол}} - A_{\text{он}}) \cdot V \cdot t \cdot K \text{ (мкат/л)}.$$

E – активність каталази в мкат/л, $A_{\text{конт}}$ і $A_{\text{оп}}$ – екстинція контрольної та дослідної проб, V – об'єм дослідної проби в 0,1 мл, t – час інкубації 600 с, K – коефіцієнт миллимолярної екстинкції перекиси водню рівний $22,2 \cdot 10^3 \text{ мм}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

Відповідність показників в наших дослідженнях знаходиться в межах потреб, які необхідні для визначення активності ферментативних методів і складає 8,7%.

2.4.1.2. Визначення активності супероксиддисмутази проводили за методом Гуревич В.С., Конторщикова К.Н., Шатилина Л.В. [36].

До 1,0 мл крові додавали 3 мл фосфатного буфера (рН 7,4), гомогенізували і центрифугували при 5000 об/хв., протягом 15 хв. Пізніше проводили осадження гемоглобіну: до 0,5 мл верхньої фази додавали 1,0 мл суміші хлороформу і метанолу (2:1). Попередню суміш охолоджували і ретельно перемішували 5 хв. Потім вміст пробірок центрифугували для видалення гемоглобіну і хлороформу. Верхній шар відсмоктували додаванням декілька крапель насиченого розчину KH_2PO_4 і розводили фосфатним буфером в 20 раз.

Далі брали 0,2 мл отриманого розчину його вносили в інкубаційне середовище, яке готували змішуванням:

- 1 0,15 М натрій-карбонатного буфера з $0,3 \cdot 10^{-4}$ М ЕДТА (рН 10,2);
- 2 0,01 М калій-фосфатний буфер (рН 7,8);
- 3 $7,5 \cdot 10^{-2}$ розчин адреналіну.

Оптичну густину визначали на спектрофотометрі СФ-46 за умови довжини хвилі 480 нм.

Розраховували активність СОД за формулою: $A - T \% / (100\% - T\%)$, де

A – активність СОД в одиницях оптичної густини, яка розрахована на 1 мг білка,

T%- процент гальмування реакції окиснення адреналіну в пробі за 60 с.

2.4.1.3. Спектрофотометричне визначення вмісту дієнових кон'югатів в крові [130].

До 0,2 мл плазми крові додавали 4 мл суміші гептан-ізопропанол (1:1 по об'єму) та струшували 10-15 хв. на лабораторному струшувачі (або закриваючи пробкою та руками). В подальшому в пробірку додавали 1 мл розчину НСІ (рН2) та 2 мл гептана, інтенсивно струшували і після відстоюванні і розшаруванні суміші на фази (на що йде 20-25 хв.) відбирали верхній гептанів шар, який використовували для визначення в них дієнових кон'югатів при довжині хвилі 233 нм (А проби 233 нм).

Як контрольну пробу використовували зразок, який містив замість плазми 0,2 мл води, що піддавалися всім вище переліченим видам обчислення.

Розрахунок вмісту первинних продуктів перекисного окиснення ліпідів проводили у відносних одиницях за формулою:

$$A_{233} \text{ на 1 мл плазми} = A_{233} \cdot V_3 : V_{\text{пл}} = (A_{233} \cdot 4) : 0,2 = A_{233} \cdot 206,$$

де, A_{233} – значення оптичної щільності дослідної проби при 233 нм;

$V_3 = 4$ мл – кінцевий об'єм гептанового екстракта (в мл),

$V_{\text{пл}} = 0,2$ мл – об'єм взятої плазми крові.

2.4.1.4. Визначення вмісту малонового діальдегіду за методом Тамирбулатова Р.А.[134].

Малоновий діальдегід визначали в сироватці крові в кількості 0,3 мл або "тіні" еритроцитів виділені за методами Tavernu R.D., Langdon R.G. і вносяться із розрахунку 1 мг білка на 1 мл середовища) змішували з 10 мМ фосфатним буфером в 125 мМ КСl і доводили об'єм до 8 мл. Потім добавляли 0,5 мл 1 мМ розчину KMnO_4 (кінцева концентрація 0,06 мМ). Через 10 хв. після додавання KMnO_4 вводили 0,5 мл 10 мМ розчину FeSO_4 (кінцева концентрація 0,55 мМ) та інкубували отриману суміш ще протягом 10 хв. Потім повторно добавляли 0,5 мл 10 мМ розчину FeSO_4 і через 5 хв. дослід припиняли. Температурний режим був у межах 24°C .

Тест з тіобарбітуровою кислотою проводили за наступною схемою. Із інкубаційної суміші перед кожним внесенням KMnO_4 та FeSO_4 , а також в кінці досліду забирали проби об'ємом 0,5 мл. Для зупинки реакції ПОЛ в пробірці добавляли 1 мл 20% розчину три хлороцтової кислоти і проводили реакцію з тіобарбітуровою кислотою. Для цього в пробу послідовно добавляли 0,5 мл 1% HCl , 1мл 0,7% розчину тіобарбітурової кислоти, отриману суміш витримували у водяній бані при 95°C протягом 20 хв. Після охолодження суміш центрифугували 10 хв. при 3000 об/хв. Оптичну щільність зафарбовану в червоний колір визначали при довжині хвилі 535 нм на спектрофотометрі "Spacol" (Німеччина) проти контрольної проби, яка не містила контрольний матеріал. У подальшому для розрахунку

використовували величину оптичної щільності, хоча при малій доступності малонового діальдегіда для побудови стандартної кривої є можливість перерахунку на кількість малонового діальдегіда виходячи із величини молярної екстинції.

2.4.1.5. Визначення концентрації молекул середньої маси (МСМ) в сироватці крові проводили за методом Волчегорского И.А., Дятлова Д.А., та інші [131].

З метою виявлення ендоксемії у хворих визначали рівень МСМ у плазмі крові, які вважаються інтегральним показником інтоксикації серед широкого кола метаболітів з токсичною дією, за методикою описаною Габріеляновим М.І. та співав. (1984,1985), котра базується на властивості 10% розчину три хлороцтової кислоти осаджувати майже весь вміст МСМ сироватки крові та визначенні фракції при довжині хвилі 254 нм. Виміри фракцій проводили на спектрофотометрі СФ-26 в ультрафіолетовому світлі при довжині хвилі 254 та 280 нм. Вміст МСМ виражали в ум.од.

2.4.1.6. Визначення еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ) в сироватці крові проводили методом Тогобаєва А.А., Кургузкіна А.В., Рикун І.В. та ін. [129].

В основі методу лежить уява про еритроцит як адсорбент, тобто здатність еритроцитарної мембрани поглинати і пропускати забарвлені речовини.

У пробірку, що містить 1 мл 3,8% розчину цитрату натрію поміщали 4 мл цільної крові. Перемішували і відділяли еритроцити шляхом центрифугування протягом 10 хв, при 3000 об/хв. Сироватку виділяли. Переносили 1 мл еритроцитарної маси в пробірку, що містить 3 мл 0,025% метиленової синьки, приготовленої на фізіологічному розчині. Перемішували та інкубували 10-12 хв, при кімнатній температурі. Після

цього центрифугували 10 хв, при 3000 об/хв. Надосадову рідину відбирали і фотоколориметрували при 630 нм проти фізіологічного розчину. Кількість поглинутого барвника (в %) вираховували за наступною формулою:

$$A=100-C \cdot 100 / B,$$

де А – кількість поглинутого барвника, %;

В – оптична щільність вихідного розчину (метиленова синька) в од. екстинції,

С – оптична щільність розчину барвника після інкубації з еритроцитами, од. екстинції;

100 – відсоток щільності мембрани в нормі.

2.4.1.7. Визначення активності аланінамінотрансферази (АЛТ) в сироватці крові проводили за методом Reitman S., Frankel S., Amer J. [201].

В пробірку вносили 0,25 мл субстратного реактиву (фосфатний буфер рН 7,4, DL-альфа-аланін 166 ммоль/л, 2-оксоглутарат 1,7 ммоль/л), 0,05 мл досліджуваної сироватки крові інкубували одну годину при 37°C. Потім додавали 0,25 мл 1 ммоль/л розчин 2,4-динітрофенілгідразону, ретельно струшували і залишали при кімнатній температурі на 20 хв.. Далі додавали 2,5 мл 0,4Н розчину NaOH. Знову струшували. Відбирали 0,76 мл отриманої суміші в кювету мікроаналізатора ФП-901 і визначали оптичну густину при довжині хвилі 500 нм. Паралельно за аналогічною схемою досліджували калібровочний розчин і будували калібровочний графік. З його допомогою визначали активність АЛТ в досліджуваній сироватці крові в ммоль/год·л.

2.4.1.8. Визначення активності аспартатамінотрансферази (АСТ) в сироватці крові проводили за методом Reitman S., Frankel S., Amer J. [201].

В пробірку вносили 0,25 мл субстратного реактиву (фосфатний буфер рН 7,4, L-аспартат 0,1 ммоль/л, 2-оксоглутарат 2 ммоль/л), 0,05 мл сироватки крові інкубували 60 хв. при 37°C. Після цього додавали 0,25 мл 1 ммоль/л розчин 2,4-динітрофенілгідразону, збовтували і залишали на при

кімнатній температурі на 20 хв. Далі додавали 2,5 мл 0,4Н розчину NaOH. Знову струшували. Відбирали 0,76 мл отриманої суміші в кювету мікроаналізатора ФП-901 і визначали оптичну густину при довжині хвилі 500 нм. Паралельно по аналогічній схемі досліджували калібровочний розчин і будували калібровочний графік. З його допомогою визначали активність АСТ в сироватці крові і виражали в ммоль/год·л.

2.4.1.9 Визначення вільного аргініну за методом Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В., Павлова Н.А. [150].

До 0,5 мл сироватки крові додавали 0,5 мл 5% розчину трихлороцтової кислоти (ТХО) і центрифугували 10 хв. При 3000 об./хв. Відбирали 0,5 мл супернатанту і додавали 1 мл 5% розчину NaOH, 0,05 мл 0,02% спиртового розчину α -нафтолу, 0,05 мл гіпобромідного реактиву, а також 0,2 мл 10% розчину сечовини і доводили дистильованою водою до 4 мл. Через 20 хв спектрофотометрували на СФ – 56 (Росія) при λ - 500 нм. Дослідну пробу та контроль спектрофотометрували проти дистильованої води. Контроль містив ті ж реактиви, що й дослід, замість сироватки була внесена дистильована вода. Концентрацію аргініну визначали за заздалегідь побудованим калібрувальним графіком.

2.4.1.10 Визначення сумарних продуктів оксиду азоту (нітрит і нітрат йонів) у біологічних рідинах за методом Schmidt H.H. [205].

Вміст сумарних продуктів оксиду азоту у досліджуваних біологічних зразках визначали за допомогою реактиву Грісса спектрофотометруючи продукти фарбування при довжині хвилі λ = 550 нм. Із вимірюваних значень оптичної густини знаходили середню величину та визначали концентрацію стабільних продуктів оксиду азоту, використовуючи заздалегідь побудовану калібрувальну криву.

Визначення концентрації сумарного метаболіту оксиду азоту проводили у крові.

Метод здійснювали наступним чином: 0,2 мл досліджуваної проби поміщали в центрифужну пробірку, додавали 0,2 мл 4 % розчину їдкого натрію та інкубували, перемішуючи, на бані з льодом впродовж 10 хв. Після цього додавали 0,4 мл дистильованої води та 1,2 мл 4 % розчину сірчанокислого цинку і витримували на водяній бані з льодом. Через 10 хв. центрифугували 20 хв. при температурі $0 - + 4^{\circ}\text{C}$ зі швидкістю 15000 об/хв. До 1,4 мл відібраного супернатанту додавали 1,4 мл реактиву Грісса (1:1) до складу якого входили: 0,1 % N – нафтилетилендіаміну гідрохлориду та 1 % сульфанілової кислоти, приготовлені на 5 % ортофосфорній кислоті (суміш зберігається не більше 12 год). Пробу з доданим реактивом поміщали на 15 хв. в затемнене місце для розвитку забарвлення, потім вимірювали екстинкцію за допомогою спектрофотометра СФ – 56 (Росія) при λ - 550 нм. Контролем служить 8 % білковий розчин, оброблений за методикою досліду.

Перерахунок здійснювали за калібрувальним графіком, що одержаний стандартними розчинами із концентрацією сумарних метаболітів оксиду азоту від 1 до 250 мкмоль/л.

2.4.1.11 Визначення сумарної активності синтази оксиду азоту за методом Сумбаева В.В., Ясинской В.В. [210].

Сумарну активність синтази оксиду азоту визначали за інтенсивністю використання $\text{NADPH}\cdot\text{H}^+$ у реакційному середовищі, яке містило 0,6 мл 5 мМ KH_2PO_4 , 0,6 мл 1 мМ MgCl_2 , 0,6 мл 10 мМ CaCl_2 на Тріс- HCl буфері $\text{pH}=7,4$, 0,6 мл 4 мМ водного розчину L-аргініну, 0,4 мл 1,0 мМ розчину $\text{NADPH}\cdot\text{H}^+$. Реакцію запускали додаванням 0,3 мл дослідного біоптату (гомогенат тканин, гемолізат еритроцитів) до реакційної суміші. Контрольна пробірка містила аналогічний набір реагентів, окрім розчину L-

аргініну, замість якого додавали 0,6 мл дистильованої води. Реакцію зупиняли додаванням 8 мМ р-ну HClO_4 до реакційної суміші.

Зниження екстинкції розчинів реєстрували при довжині хвилі 340 нм. Активність синтази оксиду азоту виражали в нмоль $\text{NADPH} \cdot \text{H}^+$, який оксинювався протягом 1 хвилини на 1 мг білка.

Розрахунок активності синтази оксиду азоту проводили за формулою.

$$X = \frac{\Delta E * P}{6,22 * a * b}$$

де ΔE – середнє значення зміни оптичної густини проби для довжини хвилі 340 нм за 1 хв;

P – кінцевий об'єм проби в кюветі, мл;

6,22 – мікромолярний коефіцієнт поглинання відновленої форми піридинових нуклеотидів для довжини хвилі 340 нм;

a – концентрація білка в пробі, г/л;

b – кількість внесеного екстракту, мл.

2.4.4 Статистичне опрацювання отриманих результатів

Усі числові результати піддавали статистичному опрацюванню з використанням середньої арифметичної (M), похибки середньої арифметичної (m), критерію Стюдента “ t ”. Розрахунки виконані з використанням засобів статистичного та графічного аналізу електронних таблиць Microsoft Excel пакету програм Microsoft Office.

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ПОРУШЕНЬ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ У КРОВІ В ДИНАМІЦІ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА В ЩУРІВ ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ L-АРГІНІНОМ

Першим етапом нашого дослідження було вивчення одного з молекулярних механізмів пошкодження клітин, що стосувалися особливостей порушень прооксидантної та антиоксидантної систем в крові при поєднаній патології (ІС і АПМ) в динаміці їх розвитку до та після корекції L-аргініном.

Для цього були проведені цілий комплекс біохімічних досліджень вмісту малонового діальдегіду, дієнових конюгатів та активності каталази, супероксиддисмутази – в крові в динаміці формування імобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда окремо та за умов їх поєднаної патології.

З цією метою були змодельовані на щурах ІС і АПМ окремо та разом і тварин розподіляли на 11 груп. Перша – контроль (інтактні щурі-самці лінії Вістар). Друга, третя і четверта – тварини з імобілізаційним стресом відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби. П'ята, шоста, сьома групи – тварини з експериментальним адреналіновим пошкодженням міокарда відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби експерименту. Восьма, дев'ята, і десята групи – тварини з поєднаною патологією (імобілізаційним стресом та адреналіновим пошкодженням міокарда) відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби до лікування і одинадцята група – тварини з поєднаною патологією після застосування препарату L-аргініну шляхом його введення внутрішньом'язово у дозі 150

мг/кг маси щурам-самцям лінії Вістар впродовж 5 днів з 1-ї по 5-у доби експерименту.

Нами були обрані фіксовані доби (1-а, 3-а і 5-а) для здійснення біохімічних досліджень при іммобілізаційному стресі та адреналіновому пошкодженні міокарда та застосовано L-аргінін з 1-ї доби, оскільки в ці періоди відбуваються суттєві порушення показників оксидантної системи і антиоксидантного захисту, які потребували використання корекційного медикаментозного лікарського засобу L-аргініну, що має властивості антиоксиданта та протизапального препарату і ангіопротектора. Крім цього зазначені вище доби відповідають фазам перебігу іммобілізаційного стресу, ішемії і некрозу міокарда.

Отже, підсумовуючи вищеописане третій розділ дисертації був присвячений вивченню початкових механізмів розвитку порушень процесів ліпопероксидації і антирадикального захисту при ІС і АПМ до та після використання L-аргініну.

Сьогодні уже відомо, що стан адаптаційної здатності імунітету залежить від взаємодії прооксидантних та антиоксидантних процесів та процесів ендогенної інтоксикації. Власне вони становлять основу функціонування судинної системи як фактору гомеостазу. Адекватні зміни в цій системі зумовлені порушенням балансу - послабленням антиоксидантів на тлі посилення прооксидантів, високою продукцією молекул середньої маси та зростанню еритроцитарного індексу інтоксикації, і можуть стати причиною розвитку ряду складних патологічних процесів в організмі. У зв'язку з тим з'ясування особливостей механізмів можливих порушень в різних ланках системи гомеостазу, дозволяє чітко відслідковувати перебіг патологічного процесу, ефективність застосованого лікування та передбачити можливий прогноз захворювання [3, 8, 9, 109].

Результати досліджень третього розділу подані в 14 таблицях і 4 рисунках.

3.1 Зміни маркерів прооксидантної і антиоксидантної систем в крові тварин в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу

У першому підрозділі дисертаційної роботи вивчали активність каталази, супероксиддисмутази і вміст дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду в крові тварин в динаміці формування експериментального іммобілізаційного стресу (табл. 3.1-3.4; рис. 3.1).

Відомо з літератури, що процеси ПОЛ і стан АОС відіграють важливу роль у розвитку багатьох захворювань. Гіпоксичні, запальні і стресорні процеси посилюють нагромадження продуктів ліпопероксидації з наступним виснаженням антиоксидантної системи та розвитком оксидантного стресу, що негативно впливає на функцію органів та систем організму, ускладнює перебіг різних захворювань [112, 113].

Таблиця 3.1. – Рівень дієнових кон'югатів у крові щурів в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ДК в відн. один.
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,825 \pm 0,02$
Тварини з ІС (до лікування)	1-а доба	10	$1,79 \pm 0,1$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$1,27 \pm 0,1$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$1,19 \pm 0,1$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС з результатами у контрольній групі.			

У результаті проведення моделювання іммобілізаційного стресу в щурів-самців лінії Вістар на 1-у і 3-у добу експерименту відбувалося зростання вмісту ДК в крові відповідно на 116,9 % ($p<0,05$) і 53,93 % ($p<0,05$) проти контролю (табл. 3.1; рис. 3.1). Пізніше на 5-у добу розвитку ІС спостерігалось у меншій мірі підвищення рівня ДК в крові відповідно на 44,2 % ($p<0,05$) відносно інтактної групи тварин, що вказувало на інтенсивне нагромадження продуктів ПОЛ в усі періоди ІС з найбільшим вираженням їх в ранній термін (табл. 3.1.; рис. 3.1.).

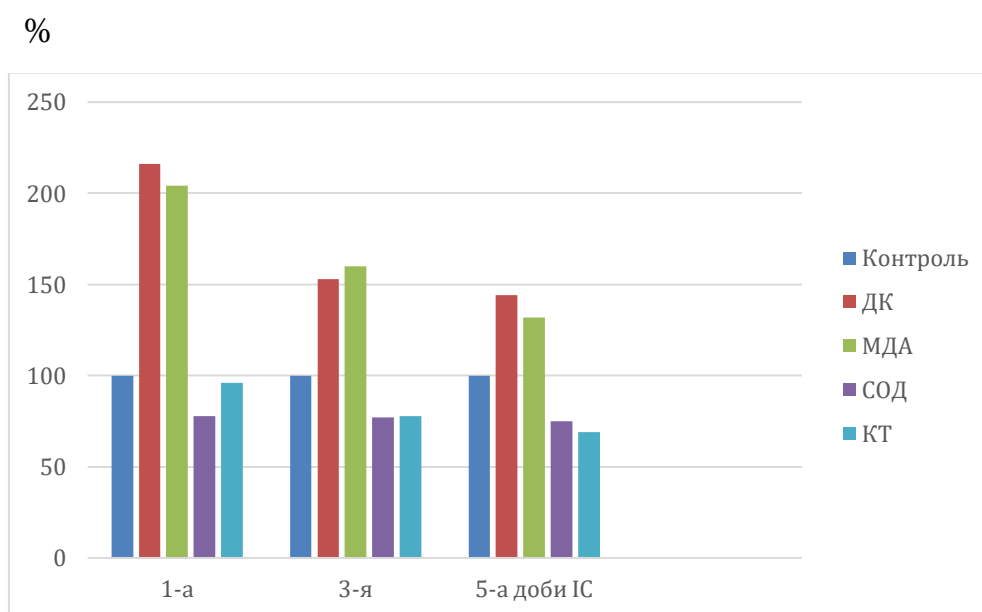


Рисунок 3.1. – Стан прооксидантної і антиоксидантної системи в крові щурів в динаміці формування іммобілізаційного стресу (у % від контролю)

Визначення кінцевого продукту ПОЛ - МДА показало його зростання в крові як у ранній (1-а і 3-а доби) так і у пізній (5-а доба) періоди розвитку іммобілізаційного стресу в крові відповідно на 104,5 % ($p<0,05$), 60,3 % ($p<0,05$), 32,6 % ($p<0,05$), що свідчило про надмірне утворення метаболітів ліпопероксидації (табл. 3.2; рис. 3.1.).

Таким чином, дослідження показників прооксидантної системи в крові, зокрема вмісту ДК і МДА показало їх різке зростання в усі періоди формування ІС, яке домінувало у ранній період (1-а доба) нашого

спостереження. Одержані нами результати досліджень дозволяють стверджувати, що надмірне продукування метаболітів ліпопероксидації має важливе значення для патогенезу розвитку ІС.

Таблиця 3.2 – Вміст малонового діальдегіду в крові тварин в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	МДА в ммоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	19,9±2,3
Тварини з ІС (до лікування)	1-а доба	10	40,75±2,5 p<0,05
	3-а доба	10	31,91±2,4 p<0,05
	5-а доба	10	26,4±2,3 p<0,05
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС з результатами у контрольній групі.			

Посилена стимуляція ПОЛ зумовлювала суттєві зміни в системі антиоксидантного ферментативного захисту. На ранньому етапі (1-а і 3-а доби) розвитку ІС відбувалося зниження активності СОД в крові відповідно на 22,3 % ($p<0,05$) і 23,3 % ($p<0,05$) відносно контролю, що вказувало на пригнічену здатність АОС утилізувати продукти ліпопероксидації (табл. 3.3; рис. 3.1). Також, на 5-у добу формування ІС відбувалися подальші порушення активності цього ензиму. Він був зниженим у крові відповідно на 25,6 % проти показників першої групи тварин, що свідчило про виснаження механізмів захисту на тлі домінування механізмів пошкодження (табл. 3.3; рис. 3.1).

Визначення іншого ферменту – КТ в крові при ІС показало, що цей фермент змінювався за напрямом, аналогічним до активності СОД.

Таблиця 3.3– Активність СОД в крові тварин в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	СОД в од. опт. густ. на 1 мг білка
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$51,5 \pm 2,2$
Тварини з ІС (до лікування)	1-а доба	10	$40,0 \pm 1,6$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$39,5 \pm 1,6$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$38,3 \pm 1,6$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС з результатами у контрольній групі.			

Так на 1-у і 3-у доби іммобілізаційного стресу спостерігалось поступове зниження активності КТ в крові відповідно на 9,6 % ($p < 0,05$) і 22,3 % ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем (табл. 3.4; рис. 3.1). Пізніше на 5-у доби розвитку ІС відбувалося подальше зниження активності цього ензиму відповідно на 31,6 % ($p < 0,05$) проти інтактної групи тварин (табл. 3.4; рис. 3.1).

Таким чином, проводячи аналіз одержаних результатів дослідження показників оксидантної і антиоксидантної систем дозволило констатувати, що на усіх етапах розвитку ІС в крові відбувалася гіперпродукція метаболітів ПОЛ особливо на 1-у добу та зниження активності ферментів (СОД, КТ), що переважали на 5-у добу експерименту, що свідчило про наявність оксидантного стресу, який посилює та поглиблює перебіг іммобілізаційного стресу.

Таблиця 3.4 – Активність каталази в крові тварин в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	КТ в мкат/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	61,3 \pm 2,4
Тварини з ІС (до лікування)	1-а доба	10	55,4 \pm 2,6 $p < 0,05$
	3-а доба	10	47,62 \pm ,6 $p < 0,05$
	5-а доба	10	41,9 \pm 2,6 $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС з результатами у контрольній групі.			

3.2. Порушення маркерів оксидантної і антиоксидантної систем в крові тварин в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда

Завданням другого підрозділу дисертаційної роботи було вивчити особливості порушень оксидантно-антиоксидантних процесів у динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда (1-а, 3-а, 5-а доби). Для цього були проведені комплекс біохімічних досліджень для характеристики стану ПОЛ за допомогою визначення концентрації ДК, МДА і АОС за активністю ферментів СОД, КТ.

У процесі розвитку адреналінового пошкодження міокарда (1-а і 3-а доба) в крові було встановлено зростання вмісту ДК відповідно на 154,5 % ($p < 0,05$) і 142,4 % ($p < 0,05$) проти контролю (табл. 3.5; рис. 3.2). Пізніше на 5-у доби експерименту відбувалося підвищення концентрації ДК на 93,9 % ($p < 0,05$) відносно інтактної групи тварин, що свідчить про активізацію реакцій вільнорадикального окиснення. Як видно з одержаних даних, що

процеси ПОЛ особливо переважали в ранню фазу (1-а доба) формування адреналінового пошкодження міокарда (табл. 3.5; рис. 3.2).

Таблиця 3.5. – Вміст ДК у крові тварин в динаміці формування адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ДК відн. Один.
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,825 \pm 0,02$
Тварини з АПМ	1-а доба	10	$2,1 \pm 0,1$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$2,0 \pm 0,1$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$1,6 \pm 0,1$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Подібний вектор порушень було виявлено під час дослідження іншого продукту ПОЛ – МДА в крові. Рівень МДА в ранній період (1-а і 3-а доби) формування адреналінового пошкодження в тканинах міокарда зростав у крові відповідно на 108,5 % ($p < 0,05$) і 84,4 % ($p < 0,05$), а далі на 5-у добу експерименту утримувалося подальше його незначне підвищення відповідно на 30,1 % ($p < 0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (табл. 3.6; рис. 3.2).

Отже визначення ДК і МДА в крові в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда показало їх різке зростання, яке досягало свого апогею на 1-у добу експерименту і вказувало на надмірну продукцію, як первинних так і вторинних метаболітів ПОЛ, що мають патогенний вплив на перебіг міокардіопатії.

Таблиця 3.6. – Вміст МДА у крові тварин в динаміці формування адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	МДА в ммоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$19,9 \pm 2,3$
Тварини з АПМ	1-а доба	10	$41,5 \pm 2,5$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$36,7 \pm 2,4$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$25,9 \pm 2,3$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Ця стрімка активізація процесів ліпопероксидації суттєво вплинула на активність ферментів АОС, які зазнавали помітних змін.

Таблиця 3.7.– Активність СОД у крові тварин в різні періоди формування адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	СОД в од. опт. густ. на 1 мг білка
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$51,5 \pm 2,2$
Тварини з АПМ	1-а доба	10	$39,5 \pm 1,6$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$38,6 \pm 1,6$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$37,5 \pm 1,6$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

З самого початку на 1-у і 3-у доби експерименту відбувалося зниження активності СОД відповідно на 23,3 % ($p<0,05$) і 25,1 % ($p<0,05$), а далі на 5-у добу формування АПМ спостерігалось ще більше зниження відповідно на 27,2 % ($p<0,05$) відносно контролю (табл. 3.7; рис. 3.2).

З метою більш ширшого вивчення стану ферментативної ланки АОС – було досліджено активність КТ в крові при адреналіновому пошкодженні міокарда.

Встановлено, що АПМ на ранніх етапах (1-а і 3-а доби) свого розвитку супроводжується зниженням активності КТ в крові відповідно на 12,8 % ($p<0,05$) і 23,3 % ($p<0,05$), і надалі в пізній період (5-а доба) активність цього ензиму найбільше знижувалася на 34,0 % ($p<0,05$) проти першої групи тварин (табл. 3.8; рис. 3.2), що свідчило про виснаження механізмів захисту при даній експериментальній моделі хвороб.

Таблиця 3.8 – Активність КТ у крові тварин в різні періоди формування адреналінового пошкодження міокарда ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	КТ в мкат/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	61,3±2,4
Тварини з АПМ	1-а доба	10	53,4±2,6 $p<0,05$
	3-а доба	10	47,0±2,6 $p<0,05$
	5-а доба	10	40,4±2,6 $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Таким чином, дослідження маркерів оксидантної і АОС показало різке зростання вмісту ДК і МДА в крові на усіх етапах розвитку адреналінового

пошкодження міокарда з переважанням на 1-у добу експерименту в умовах зниження активності СОД, КТ, що вказувало на розвиток оксидантного стресу уже в ранній період формування адреналінового пошкодження міокарда, що посилювало перебіг міокардіопатії.

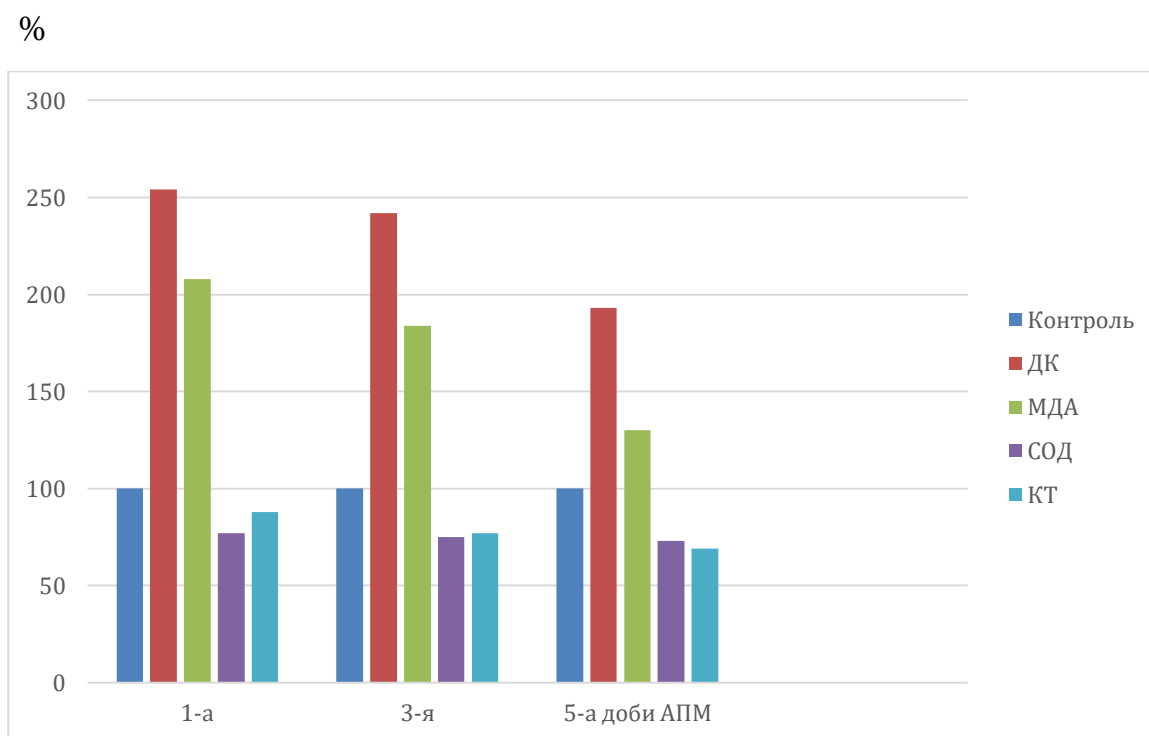


Рисунок 3.2 – Порушення прооксидантної і антиоксидантної систем в крові в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда (у % від контролю)

3.3 Особливості порушень прооксидантно-антиоксидантних процесів у динаміці розвитку іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда

Особливістю даного підрозділу наукової роботи було з'ясувати роль і значення процесів перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи в крові в динаміці (1-а, 3-а, 5-а доби) формування поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда у щурів до лікування.

З цією метою досліджували вміст ДК і МДА, активність СОД, КТ в крові в процесі розвитку цих поєднаних експериментальних моделей хвороб.

Результати досліджень представлені в 4 таблицях і в 1 рисунку.

В умовах поєднаної патології (1-а, 3-а, 5-а доби ІС і АПМ) відбувалося суттєве зростання рівня ДК в крові відповідно на 212,7 % ($p<0,05$), 178,8 % ($p<0,05$), 125,4 % ($p<0,05$) проти контролю, що свідчить про активізацію процесів ПОЛ, яка була впродовж усього періоду з переважанням на 1-у добу експерименту (табл. 3.9; рис. 3.3).

Таблиця 3.9 – Рівень дієнових кон'югатів у крові тварин за умов поєднаної патології ($M\pm m$)

Форма досліду	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ДК відн. Од.
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,825\pm 0,02$
Тварини з ІС та АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$2,58\pm 0,1$ $p<0,05$
	3-а доба	10	$2,30\pm 0,05$ $p<0,05$
	5-а доба	10	$1,86\pm 0,02$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС та АПМ з результатами у контрольній групі.			

Визначення кінцевого продукту ВРО – вмісту МДА в крові дало можливість виявити його підвищення на 119,5 % ($p<0,05$), 87,4 % ($p<0,05$), 13,5 % ($p<0,05$) відповідно на 1-у, 3-у, 5-у доби розвитку поєднаної патології, що вказувало на стимуляцію ліпопероксидазних процесів з домінуванням в ранній період їх формування (табл. 3.9; рис. 3.3).

Таблиця 3.10 – Рівень малонового діальдегіду в крові тварин за умов поєднаної патології ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	МДА в ммоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	19,9±2,3
Тварини з ІС та АПМ (до лікування)	1-а доба	10	43,7±2,5 $p < 0,05$
	3-а доба	10	37,3±2,4 $p < 0,05$
	5-а доба	10	22,6±2,3 $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС та АПМ з результатами у контрольній групі.			

Отже, вивчення рівня початкових і кінцевих продуктів ПОЛ (ДК і МДА) показало їх різке зростання в крові з максимальним вираженням в % на 1-у добу розвитку ІС і АПМ, що свідчило про гіперпродукцію метаболітів вільнорадикального окиснення та їх патогенний вплив на зазначені експериментальні моделі хвороб.

Одержані результати досліджень показують, що вони суттєво вплинули на ферментативну активність антиоксидантної системи в умовах ІС і АПМ.

Активність ферментативної ланки антиоксидантної системи в умовах поєднаної патології зазнавала помітних змін і мала депресивний характер та залежала від тривалості дії патогенних чинників.

А саме встановлено, що на ранньому (1-а доба) етапі розвитку ІС та АПМ відбувалося зниження активності СОД на 26,21 % ($p < 0,05$) відносно контролю (табл. 3.11; рис. 3.3). Далі на 3-у добу експерименту спостерігалось подальше зниження активності СОД. Вона знижувалася на 27,4 % ($p < 0,05$) проти інтактної групи тварин (табл. 3.11; рис. 3.3). У пізній період (5-а доба) формування поєднаної патології – ІС і АПМ було виявлено

найсуттєвіше зниження активності СОД в крові відповідно на 31,0 % ($p<0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (табл. 3.11; рис. 3.3).

Одержані нами дані вказують на неспроможність СОД активно нейтралізувати надмірно утворені продукти ПОЛ в крові протягом 5-ти діб експерименту, що свідчить про виснаження механізмів захисту та посилення механізмів пошкодження при ІС і АПМ.

Таблиця 3.11 – Активність супероксиддисмутази у крові тварин за умов поєднаної патології ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	СОД в од. опт. густ. на 1 мг білка
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$51,5\pm 2,2$
Тварини з ІС та АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$38,0\pm 1,6$ $p<0,05$
	3-а доба	10	$37,4\pm 1,8$ $p<0,05$
	5-а доба	10	$35,5\pm 1,8$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС та АПМ з результатами у контрольній групі.			

Дослідження іншого ферменту АОС – каталази в крові показало аналогічний напрям змін як і СОД при АПМ і ІС.

З'ясовано, що на 1-у добу експерименту спостерігалось зниження активності КТ на 17,2 % ($p<0,05$), пізніше на 3-у добу – встановлено її зниження на 25,2 % ($p<0,05$) проти контролю (табл. 3.12; рис. 3.3.1). Згодом на 5-у добу розвитку ІС та АПМ відбувалося і надалі зниження активності КТ відповідно на 36,8 % ($p<0,05$) відносно першої групи тварин, що свідчить про депресії АОС (табл. 3.12; рис. 3.3).

Таблиця 3.12 – Активність каталази у крові тварин за умов поєднаної патології ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	КТ в мкат/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	61,3±2,4
Тварини з ІС та АПМ (до лікування)	1-а доба	10	50,7±2,5 $p < 0,05$
	3-а доба	10	45,8±2,6 $p < 0,05$
	5-а доба	10	38,7±2,5 $p < 0,05$

Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС та АПМ з результатами у контрольній групі.

%

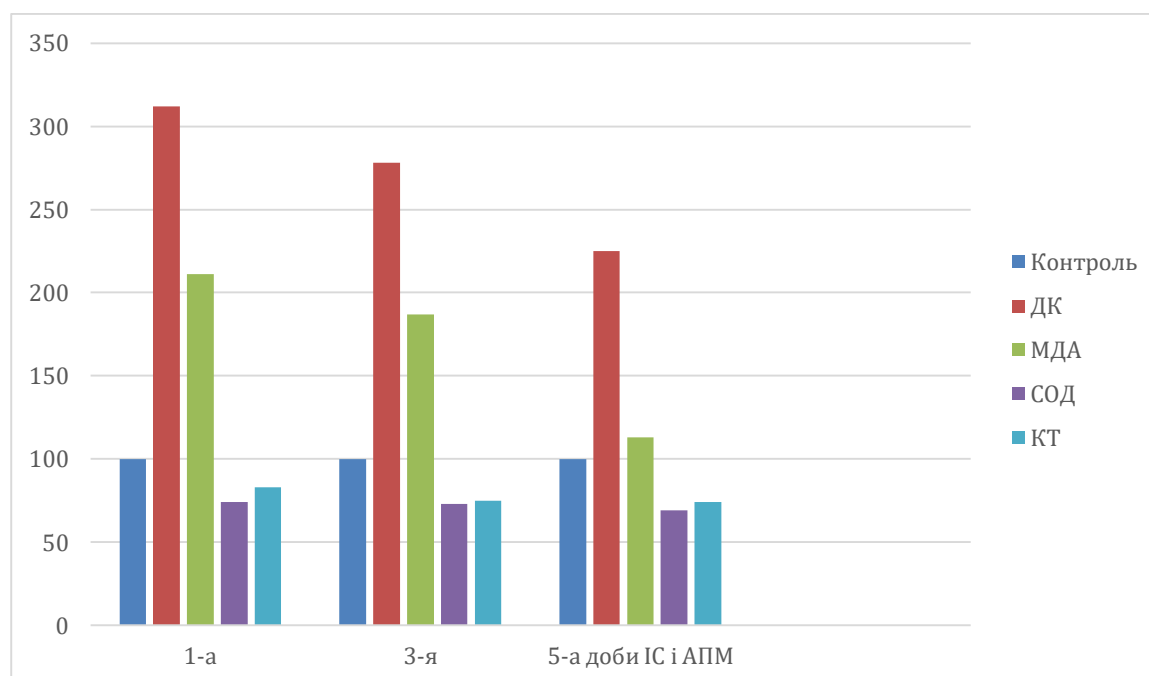


Рисунок 3.3 – Стан прооксидантної і антиоксидантної системи в крові в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу і адреналінового пошкодження міокарда (у % від контролю)

Отже, підсумовуючи одержані результати досліджень варто підкреслити, що поєднана патологія – ІС і АПМ зумовлює помітні

порушення процесів оксидантної і антиоксидантної систем з розвитком оксидантного стресу уже на ранніх етапах (1-а доба) їх формування з подальшим їх посиленням.

Отримані дані свідчать про участь одного з молекулярних механізмів пошкодження тканин за умов розвитку ішемічних процесів у міокарді та ІС.

Аналізуючи одержані результати досліджень можна констатувати, що в процесі розвитку адреналінового пошкодження міокарда та іммобілізаційного стресу переважають механізми пошкодження над механізмами захисту, які уже виявляються з ранніх етапів формування цих експериментальних моделей хвороб та спостерігаються на усіх (1-а, 3-я, 5-а доби) періодах експерименту.

3.4 Вплив препарату L-аргініну на порушені маркери оксидантної і антиоксидантної системи в крові при ІС і АПМ

Загальновідомо, що препарат L-аргінін широко використовується в клінічній практиці лікаря завдяки тому, що він має антиоксидантні, вазодилатуючі, антигіпопротекторні, протизапальні та імунокоригуючі властивості [4].

Виходячи з вищенаведеного та враховуючи наші попередньо одержані результати досліджень, які вказували, на те що за умов поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда в крові розвивається починаючи з 1-ї доби експерименту оксидантний стрес, що проявляється гіперпродукцією метаболітів ліпопероксидації на тлі депресії ферментативної ланки антиоксидантного захисту.

Властиво, це стало підґрунтям для застосування антиоксидантів, як середників, що поліпшували порушені процеси оксидантно-антиоксидантної системи при АПМ і ІС.

З цією метою нами був застосований препарат L-аргінін впродовж 5 діб (з 1-ї по 5-у доби), який вводили внутрішньом'язово щоденно у дозі 150 мг і порівнювали результати досліджень тварин з ІС та АПМ до та після його використання на 5-у добу експерименту.

Поєднана патологія (ІС і АПМ) проявляла на 5-у добу (до лікування) підвищенням вмісту ДК на 125,4 % ($p<0,05$) і МДА на 13,3 % ($p<0,05$) проти контролю (табл. 3.13; рис. 3.4).

Застосування L-аргініну призводило до зниження рівня ДК на 26,5 % ($p<0,05$) і МДА на 11,0 % ($p<0,05$) відносно групи тварин з поєднаною патологією (ІС і АПМ), які не піддавалися впливу цього лікарського середника, що свідчило про його антиоксидантну дію (табл. 3.13; рис. 3.4).

Таблиця 3.13– Вплив L-аргініну на вміст ДК і МДА в крові тварин на 5-у добу розвитку ІС і АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	ДК в відн. один.	МДА в ммоль/л
Інтактні щури-самці	10	$0,825\pm0,02$	$19,9\pm2,3$
ІС та АПМ на 5-у добу експерименту (до лікування)	10	$1,865\pm0,02$ $p<0,05$	$22,6\pm2,3$ $p<0,05$
ІС та АПМ на 5-у добу експерименту (після лікування L-аргініном)	10	$1,370\pm0,1$ $p<0,05$ $p_1<0,05$	$20,1\pm2,1$ $p<0,05$ $p_1<0,05$
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ІС і АПМ з результатами у контрольній групі;			
Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні результатів ІС і АПМ до та після лікування на 5-у добу експерименту.			

На 5-у добу формування ІС та АПМ до лікування відбувалося зниження активності СОД на 31,0 % ($p<0,05$), КТ на 36,8 % ($p<0,05$) в крові в порівнянні з першою групою тварин, що вказувало на виснаження ферментативної ланки АОС (табл. 3.14; рис. 3.4).

Використання препарату L-аргініну зумовлювало підвищення активності СОД на 40,5 % ($p<0,05$), КТ на 49,3 % ($p<0,05$) в крові проти групи щурів, яким не вводили цей середник, що свідчило про його коригуючий вплив на змінені маркери ПОЛ і АОС за умов розвитку іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.

Таблиця 3.14 – Вплив L-аргініну на активність СОД і КТ у крові тварин при ІС і АПМ на 5-у добу експерименту($M\pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	СОД в один. опт. щільн. Н а 1 мг. білка	КТ в мкат/л
Інтактні щури-самці	10	51,5±2,2	61,3±2,4
ІС при АПМ на 5-у добу експерименту (до лікування)	10	35,5±1,8 $p<0,05$	38,7±2,5 $p<0,05$
ІС при АПМ на 5-у добу експерименту (після лікування L-аргініном)	10	49,9±1,6 $p<0,05$ $p_1<0,05$	57,8±2,4 $p<0,05$ $p_1<0,05$
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ІС і АПМ з результатами у контрольній групі;			
Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні результатів ІС і АПМ з результатами до та після лікування на 5-у добу експерименту.			

Отже, проведений нами цілий ряд біохімічних досліджень показників оксидантної і антиоксидантної системи в динаміці розвитку поєднаних патологічних процесів (ІС та АПМ) показало зростання процесів ліпопероксидації на тлі пригнічення ферментативної ланки антиоксидантної системи, які переважали у ранній період їх формування та свідчило про участь одного з молекулярних механізмів пошкодження клітин в патогенезі цих моделей хвороб.

У цьому зв'язку варто підкреслити, що однією з важливих патогенетичних ланок в розвитку і прогресуванні хронічних запальних процесах і захворювань серцево-судинної системи відіграє активація оксидантного стресу з його пошкоджувальною дією на структури і функції тканин та органів. Саме вираженість змін в системі перекисне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист може свідчити про швидкість прогресування патологічного процесу і характер можливих ускладнень, що є важливим для визначення наслідків захворювання, рецидивів та інвалідизації [].

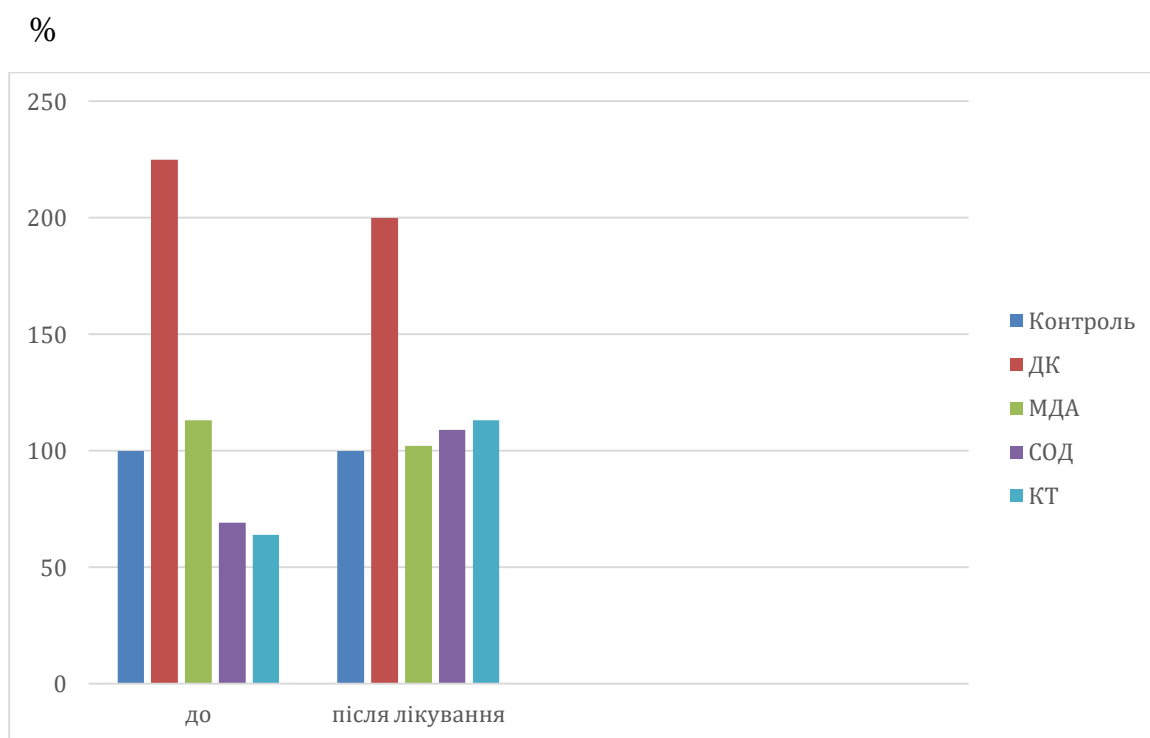


Рисунок 3.4 – Вплив L-аргініну на порушені показники ПОЛ і АОС в крові при ІС і АПМ (% порівняння до та після корекції L-аргініном на 5-у добу ІС і АПМ).

З метою патогенетичної терапії застосування нами препарату L-аргініну було встановлено, що він спричиняв антиоксидантний вплив на порушені показники метаболічних процесів за умов розвитку

експериментальних іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.

Узагальнюючи результати наших досліджень, що наведені у третьому розділі дисертації, можна зробити такі проміжні висновки:

1. Іммобілізаційний стрес супроводжувався різким нагромадженням як початкових так і кінцевих продуктів (ДК, МДА) ліпопероксидації особливо на 1-у добу експерименту та пригніченням активності ферментів антиоксидантного захисту (СОД, КТ) в крові, які домінували на 5-у добу експерименту відносно інтактної групи тварин.

2. Адреналінове пошкодження міокарда зумовлювало порушення балансу прооксидантної і антиоксидантної системи в крові з перевагою першої на тлі депресії другої, які домінували в ранній період його формування в порівнянні з першою групою тварин.

3. Поєднана патологія – іммобілізаційний стрес і адреналінове пошкодження міокарда спричиняла розвиток оксидантного стресу уже на ранніх (1-а доба) етапах їх розвитку і надалі цей процес поглиблювався і досягнув свого апогею на 5-у добу експерименту до лікування проти контролю.

4. Використання L-аргініну призводило до зниження концентрації ДК і МДА та підвищення активності СОД, КТ в крові, що свідчило про його антиоксидантний вплив на порушений метаболізм в умовах розвитку іммобілізаційного стресу і адреналінового пошкодження міокарда.

Результати досліджень даного розділу дисертації опубліковані у 2 наукових працях [63, 183].

РОЗДІЛ 4

ЗНАЧЕННЯ ЗМІН МАРКЕРІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У КРОВІ В МЕХАНІЗМІ РОЗВИТКУ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ L-АРГІНІНОМ

Цілий ряд науковців, стверджують про важливе значення ендогенної інтоксикації в патогенезі багатьох патологічних процесів організму. Ендогенна інтоксикація – неспецифічний синдром, характерний для багатьох захворювань. Прогноз перебігу різних токсичних станів, багатьох захворювань, які супроводжуються інтоксикаційним синдромом, вибір способу дезінтоксикаційної терапії та інших методів лікування утруднені без об'єктивної оцінки рівня ендогенної інтоксикації (ЕІ). Серед методів діагностики ЕІ найбільш об'єктивним є визначення еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ). Оскільки мембрани дозрілих еритроцитів можна розглядати як модель плазматичних мембран усіх клітин організму, підвищення їх проникності (зростання ЕІІ) свідчить про патологічні процеси, що супроводжуються цитолізом і виходом з цитоплазми органел та органелоспецифічних ферментів [22, 138, 146]. У доступній нам літературі мало даних про рівень ендогенної інтоксикації при іммобілізаційному стресі у щурів, а при поєднаній патології взагалі відсутні.

Молекули середньої маси (МСМ) – вторинні ендогенні токсини пептидної природи. Істотна особливість МСМ полягає в їх чітко вираженій високій біологічній активності. При концентраціях, що перевищують фізіологічні, вони погіршують перебіг основного патологічного процесу, набуваючи ролі вторинних токсинів, негативно впливають на життєдіяльність організму. Нагромадження МСМ у крові викликає гемодинамічні порушення, анемію, сепсис, полісерозити, нервово-психічні

порушення. Визначення цих речовин у крові дає змогу оцінити ступінь ендогенної інтоксикації, а також контролювати ефективність детоксикаційних засобів [22, 146]. Гостре адреналінове ушкодження міокарда (АПМ) призводить до активації пероксидного окиснення ліпідів [22, 138], підвищення вмісту гострофазових протеїнів, пригнічення імунної системи та підвищення рівня молекул середньої маси. МСМ володіють високою біологічною активністю змінюють тонус судин, проникність клітинних мембран, виявляють прямий вплив на біоелектричну активність серця, провокуючи розвиток ішемічної хвороби серця (нестабільна стенокардія і гострий інфаркт міокарда) [112, 113].

Враховуючи вищенаведене, метою нашого дослідження в даному розділі було з'ясувати роль порушень показників ендогенної інтоксикації в патогенезі розвитку ізолюваної ІС та АПМ та в їх поєднанні до та після корекції препаратом L-аргініном.

Відповідно до цього стан ендогенної інтоксикації характеризували за вмістом МСМ₂₅₄ МСМ₂₈₀ та еритроцитарного індексу інтоксикації їх в крові в динаміці (1-а, 3-а, 5-а доби) формування іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда. Даний розділ містить чотири підрозділи. Перший підрозділ присвячений вивченню змін показників ендогенної інтоксикації (ПЕІ) в крові при ІС, другий – порушення ПЕІ в крові при АПМ, третій – стан ПЕІ при поєднаній патології – ІС і АПМ (до лікування) і четвертий – вплив препарату L-аргініна на порушені показники ПЕІ в крові на 5-у добу формування поєднаної патології ІС і АПМ.

У цілому четвертий розділ ілюстрований 4 рисунками і 7 таблицями.

4.1. Особливості змін маркерів ендогенної інтоксикації в крові щурів в динаміці формування іммобілізаційного стресу

Результати біохімічних досліджень показали, що на 1-у добу формування ІС відбувається послідовне зростання вмісту МСМ₂₅₄ та МСМ₂₈₀ в крові відповідно на 100,0 % (p<0,05), 125,8 % (p<0,05), проти контрольної групи тварин (табл. 4.1; рис. 4.1). На 3-й день експерименту рівень МСМ₂₅₄ збільшилася на 78,94% (p <0,05), тоді як МСМ₂₈₀ на 83,8% (p <0,05) проти інтактної групи тварин. На 5 -й день ІС відмічено збільшення вмісту МСМ₂₅₄ на 36,84% (p <0,05) та на МСМ₂₈₀ та 61,2% (p <0,05) у порівнянні з першою групою щурів.

Вивчення іншого показника ендогенної інтоксикації, зокрема, ЕП в крові на 1-шу добу експерименту в дослідній групі щурів, показало зростання на 68,3 % (p < 0,05) при ІС щодо інтактної групи. Цей показник на 3-тю добу експерименту підвищився на 62,9 % (p < 0,05) у дослідній групі проти контролю. У найпізніший термін нашого дослідження на 5-ту добу експерименту спостерігалось зростання ЕП на 37,9 % (p < 0,05) порівняно з першою групою щурів (табл. 4.2; рис. 4.1).

Таблиця 4.1 – Вміст МСМ₂₅₄, МСМ₂₈₀ у крові щурів у динаміці розвитку іммобілізаційного стреса (M±m)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	МСМ ₂₅₄ в ум.од/л.	МСМ ₂₈₀ в ум. од/л.
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	0,038±0,005	0,31±0,05
Тварини з ІС (до лікування)	1-а доба	10	0,076±0,005 p<0,005	0,70±0,05 p<0,05
	3-а доба	10	0,068±0,005 p<0,005	0,57±0,05 p<0,05
	5-а доба	10	0,052±0,005 p<0,005	0,50±0,05 p<0,05
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС з результатами у контрольній групі.				

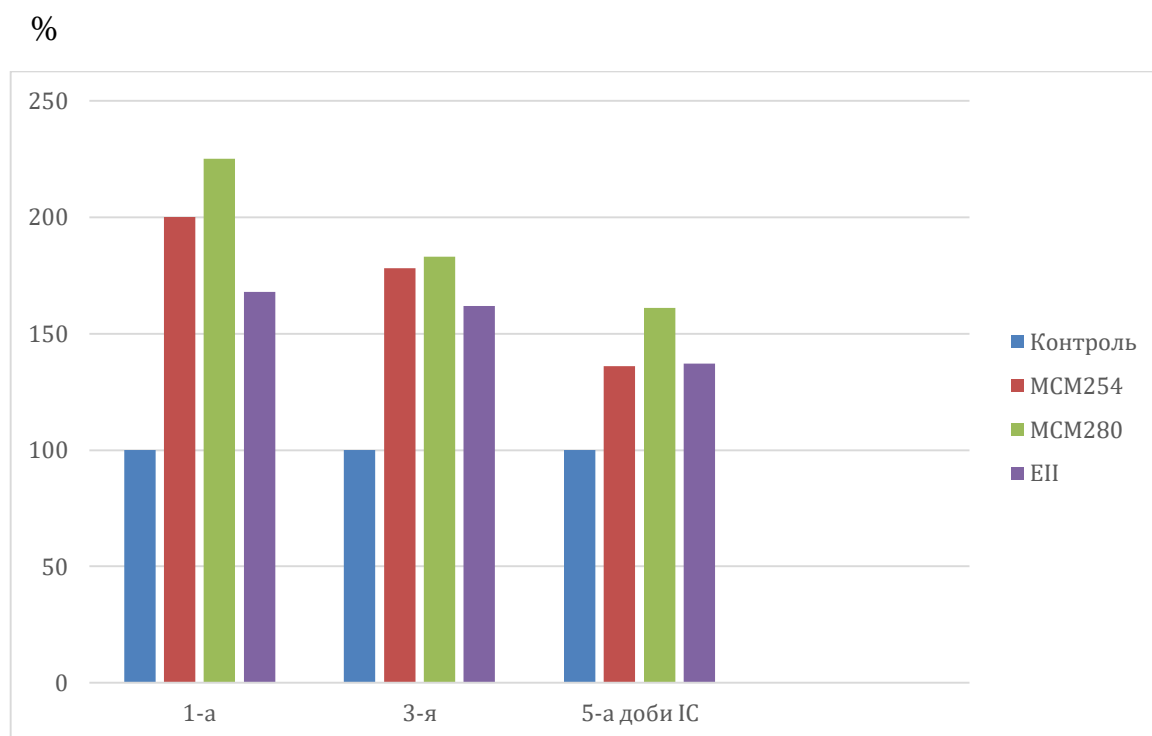


Рисунок 4.1. – Вміст MCM₂₅₄ та MCM₂₈₀ та ЕІІ в крові тварин в динаміці розвитку ІС (у % від контролю)

Таблиця 4.2 – Вміст еритроцитарного індексу інтоксикації у крові щурів в динаміці формування ІС (M±m)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ЕІІ у %
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	42,71±0,90
Тварини з ІС (до лікування)	1-а доба	10	71,9±1,2 p<0,05
	3-а доба	10	69,6±1,1 p<0,05
	5-а доба	10	58,9±0,95 p<0,05
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС з результатами у контрольній групі.			

Таким чином, визначення показників ендogenous інтоксикації у в крові показало їх зростання на усіх етапах формування іммобілізаційного стресу

з домінуванням їх на 1-у добу експерименту відносно контролю, що вказує на посилення процесів інтоксикації при цій експериментальній моделі хвороб.

4.2. Зміни маркерів ендогенної інтоксикації в крові щурів за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда

Метою другого підрозділу четвертого розділу дисертаційної роботи було вивчити особливості змін маркерів ендогенної інтоксикації в крові в динаміці (1-а, 3-а і 5-а доби) формування адреналінового пошкодження міокарда.

Стан ЕІ визначали за рівнем MCM_{254} та MCM_{280} і еритроцитарного індексу інтоксикації в крові при адреналіновому пошкодженні міокарда.

Встановлено, що на 1-у добу формування адреналінового пошкодження міокарда відбувалося зростання концентрації MCM_{254} та MCM_{280} в крові відповідно на 121,0 % ($p < 0,05$) та 154,8 % ($p < 0,05$) проти інтактної групи тварин (табл. 4.3; рис. 4.2).

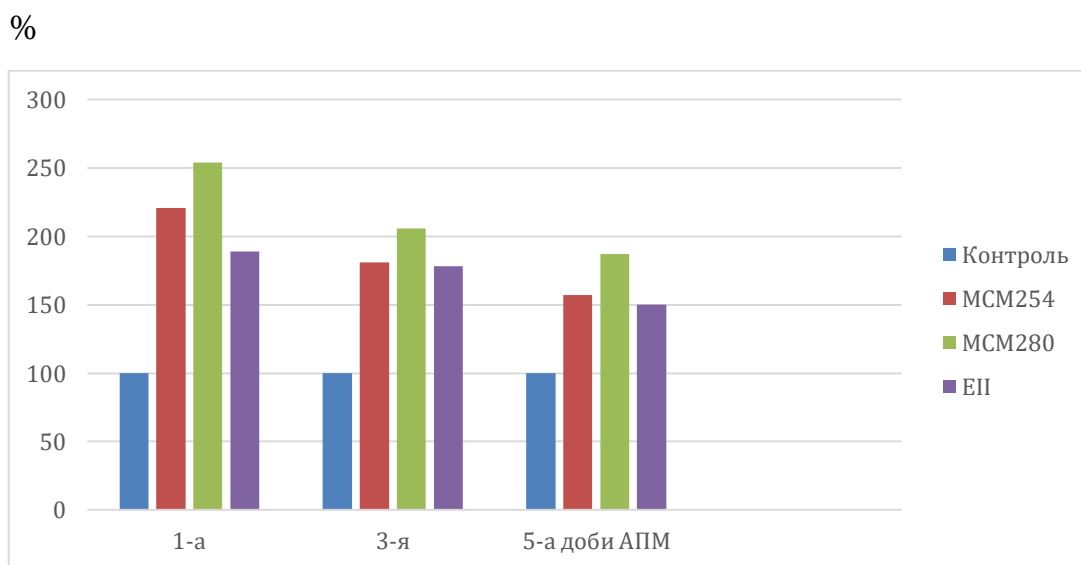


Рисунок 4.2. – Зміна маркерів ендогенної інтоксикації в крові тварин в динаміці формування адреналінового пошкодження міокарда (у % від контролю)

Таблиця 4.3 - Вміст МСМ₂₅₄, МСМ₂₈₀ у крові щурів у динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда (М±m)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	МСМ ₂₅₄ в ум.од/л.	МСМ ₂₈₀ в ум. од/л.
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	0,038±0,005	0,31±0,05
Тварини з АПМ (до лікування)	1-а доба	10	0,084±0,005 p<0,05	0,79±0,05 p<0,05
	3-а доба	10	0,069±0,005 p<0,05	0,64±0,05 p<0,05
	5-а доба	10	0,060±0,005 p<0,05	0,58±0,05 p<0,05
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.				

Далі в різні періоди адреналінового пошкодження міокарда спостерігалось підвищення рівня МСМ₂₅₄, МСМ₂₈₀ в крові відповідно на 81,5 % (p<0,05), 106,4 % (p<0,05) на 3-ю добу і досягнуло найменших процентних показників проте були вищими на 5-ту добу досліджень відповідно на 57,8 % (p<0,05) і 87,0 % (p<0,05) відносно контролю (табл. 4.3; рис. 4.2).

Не менш важливе значення для характеристики стану ендогенної інтоксикації при АПМ має визначення іншого показника, який носить назву еритроцитарний індекс інтоксикації.

Як видно з наших досліджень, що аналогічний вектор змін зазнавав вміст еритроцитарного індексу інтоксикації, як і МСМ в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда в крові (1-а, 3-а і 5-а доби). Він – зростав відповідно на 89,9 % (p<0,05), 78,9 % (p<0,05) і 50,3 % (p<0,05) в крові відносно першої групи тварин (табл. 4.4; рис. 4.2).

Отже, як показують результати досліджень ЕІ, що цей маркер був підвищеним на усіх етапах формування АПМ з найбільшим ступенем

зростання у ранні його періоди (1-а доба) в порівнянні з контрольною групою щурів.

Таблиця 4.4 – Рівень еритроцитарного індексу інтоксикації у крові щурів в динаміці формування адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ЕІ у %
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	42,71 \pm 0,90
Тварини з АПМ (до лікування)	1-а доба	10	81,1 \pm 1,3 p<0,05
	3-а доба	10	76,4 \pm 1,0 p<0,05
	5-а доба	10	64,2 \pm 1,0 p<0,05
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Одержані дані вказують на стимуляцію процесів ендогенної інтоксикації на усіх етапах розвитку адреналінового пошкодження міокарда, які особливо були найбільше виражені на 1-у добу експерименту. Таким чином комплексні біохімічні дослідження маркерів ендогенної інтоксикації в тварини різних груп (інтактні та з АПМ на 1-у, 3-ю та 5-у добу) довели, що найбільше утворення продуктів ендогенної інтоксикації відбувається на ранніх етапах їх формування, особливо на першу добу експерименту з поступовим зменшення їх на 3-ю і 5-у доби, але вище контрольної групи, що свідчить про важливу роль метаболітів в ендогенній інтоксикації та їх участь в механізмах формування АПМ.

4.3. Зсув маркерів ендогенної інтоксикації в крові щурів за умов розвитку поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда

Метою даного підрозділу було вивчити особливості порушень маркерів ендогенної інтоксикації в крові та їх роль у динаміці розвитку іммобілізаційного стресу в поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарда.

Дослідження вмісту MCM_{254} , MCM_{280} у крові щурів показало їх різке зростання як у 1-у добу експерименту на 192,1 % ($p < 0,05$) і 219,3 % ($p < 0,05$) та дещо нижчі показники на 3-ю добу формування ІС та АПМ відповідно на 147,3 % ($p < 0,05$) і 183,8 % ($p < 0,05$) відносно контролю (табл. 4.5; рис. 4.3.).

Таблиця 4.5 – Вміст MCM_{254} , MCM_{280} у крові щурів у динаміці розвитку поєднаної патології - іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	MCM_{254} в ум.од/л.	MCM_{280} в ум. од/л.
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,038 \pm 0,005$	$0,31 \pm 0,05$
Тварини з ІС та АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$0,111 \pm 0,005$ $p < 0,05$	$0,99 \pm 0,05$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$0,094 \pm 0,005$ $p < 0,05$	$0,88 \pm 0,05$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$0,086 \pm 0,005$ $p < 0,05$	$0,79 \pm 0,05$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС та АПМ з результатами у контрольній групі.				

Встановлено, що в найвіддаленіший період розвитку поєднаної патології - ІС та АПМ на 5-у добу в крові зберігалось також підвищення вмісту MCM_{254} , MCM_{280} в крові щурів, відповідно на 126,3 % ($p < 0,05$), 154,8 % ($p < 0,05$), в порівнянні з першою групою тварин (табл. 4.5; рис. 4.3).

%

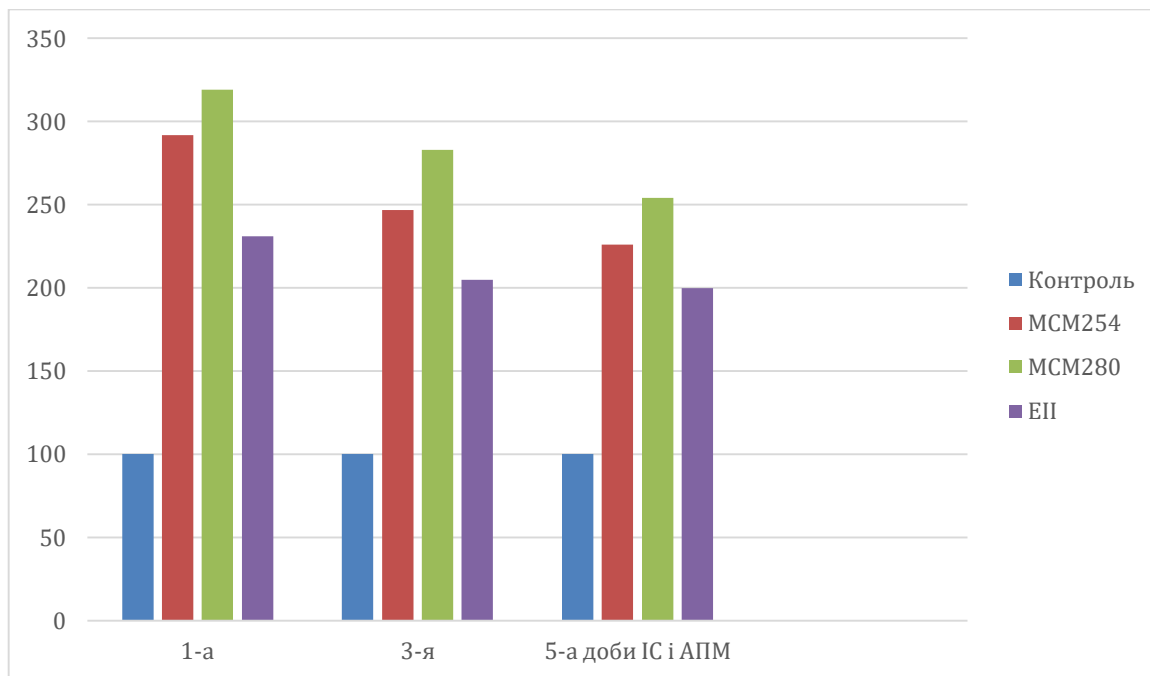


Рисунок 4.3. – Зміна маркерів ендогенної інтоксикації в крові тварин в динаміці формування іммобілізаційного стреса та адреналінового пошкодження міокарда (у % від контролю)

Для всебічної оцінки стану ендогенної інтоксикації було проведено дослідження вмісту еритроцитарного індексу інтоксикації в крові при поєднаній патології.

Нами виявлено помітне підвищення цього маркера в крові в процесі розвитку ІС і АПМ (1-а, 3-а і 5-а доби) відповідно на 131,6 % ($p < 0,05$), 105,6 % ($p < 0,05$), 100,0% ($p < 0,05$) проти інтактної групи тварин, що свідчило про активізацію інтоксикаційних процесів, які домінували на 1-у добу експерименту (табл. 4.6; рис. 4.3).

Таблиця 4.6 – Вміст еритроцитарного індексу інтоксикації у крові щурів в динаміці формування іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Форма досліду	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ЕІ у %
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$42,71 \pm 0,90$
Тварини з ІС та АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$98,9 \pm 2,8$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$87,8 \pm 2,2$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$85,4 \pm 2,2$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС та АПМ з результатами у контрольній групі.			

Таким чином, підсумовуючи одержані нами результати досліджень можна констатувати, що поєднана патологія ІС та АПМ супроводжувалася стрімкою активацією процесів ендогенної інтоксикації (1-а, 3-тя і 5-а доби), які були більше виражені ніж при окремих процесах ІС та АПМ, проти контролю, та свідчило про пригнічення активності дезінтоксикаційних систем в організмі тварин.

4.4 Вплив L-аргініну на порушені процеси ендогенної інтоксикації в крові щурів при іммобілізаційному стресі та адреналіновому пошкодженні міокарда

Літературні джерела вказують на те, що L-аргінін виявляє протизапальну, імунокоригуючу, ендотелійстабілізуючу і антиоксидантну дію [4]. Виходячи з вищевикладеного нами був застосований L-аргінін, як препарат патогенетично обґрунтований для терапії стресорно індукованих та адреналінопошкоджуючих захворювань.

У попередніх підрозділах дисертаційної роботи до лікування було встановлено зростання вмісту маркерів ендогенної інтоксикації в динаміці розвитку ІС та АПМ, які особливо домінували в ранній їх період (1-а доба) формування проти контрольної групи тварин. Це свідчило про перевагу процесів ендогенної інтоксикації, які різко зростали в міру формування патологічних процесів і були потужним пошкоджувальним фактором, що посилював розвиток ІС і АПМ.

Таблиця 4.7 – Вплив L-аргініну на концентрацію показників ендогенної інтоксикації – МСМ₂₅₄, МСМ₂₈₀ і ЕП в крові тварин при ІС і АПМ на 5-у добу експерименту (M±m)

Форма досліджу	Кількість тварин	МСМ ₂₅₄ в ум.од/л.	МСМ ₂₈₀ в ум. од/л.	ЕП у %
Інтактні щурі-самці	10	0,038±0,005	0,31±0,05	42,71±0,90
ІС та АПМ на 5-у добу експерименту (до лікування)	10	0,086±0,005 p<0,05	0,79±0,05 p<0,05	85,4±2,2 p<0,05
ІС та АПМ на 5-у добу експерименту (після лікування L-аргініном)	10	0,052±0,005 p<0,05; p ₁ <0,05	0,54±0,05 p<0,05; p ₁ <0,05	51,5±0,98 p<0,05; p ₁ <0,05
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ІС і АПМ з результатами у контрольній групі;				
Примітка 2. p ₁ – достовірність різниці при порівнянні результатів ІС і АПМ з результатами до та після лікування на 5-у добу експерименту.				

Застосування L-аргініну спричиняло зниження вмісту МСМ₂₅₄ на 60,4 % (p<0,05), МСМ₂₈₀ на 31,6 % (p<0,05) і ЕП на 39,6 % (p<0,05) відносно групи тварин з ІС та АПМ в крові без використання цього лікарського середника (табл. 4.7.; рис. 4.4), що вказувало на його дезінтоксикаційну дію на порушені метаболічні процеси при даних експериментальних моделях хвороби.

Одержані нами результати досліджень дозволяють стверджувати про позитивну, коригувальну дію препарату L-аргініну на змінені показники ендогенної інтоксикації в крові за умов розвитку ІС та АПМ.

%

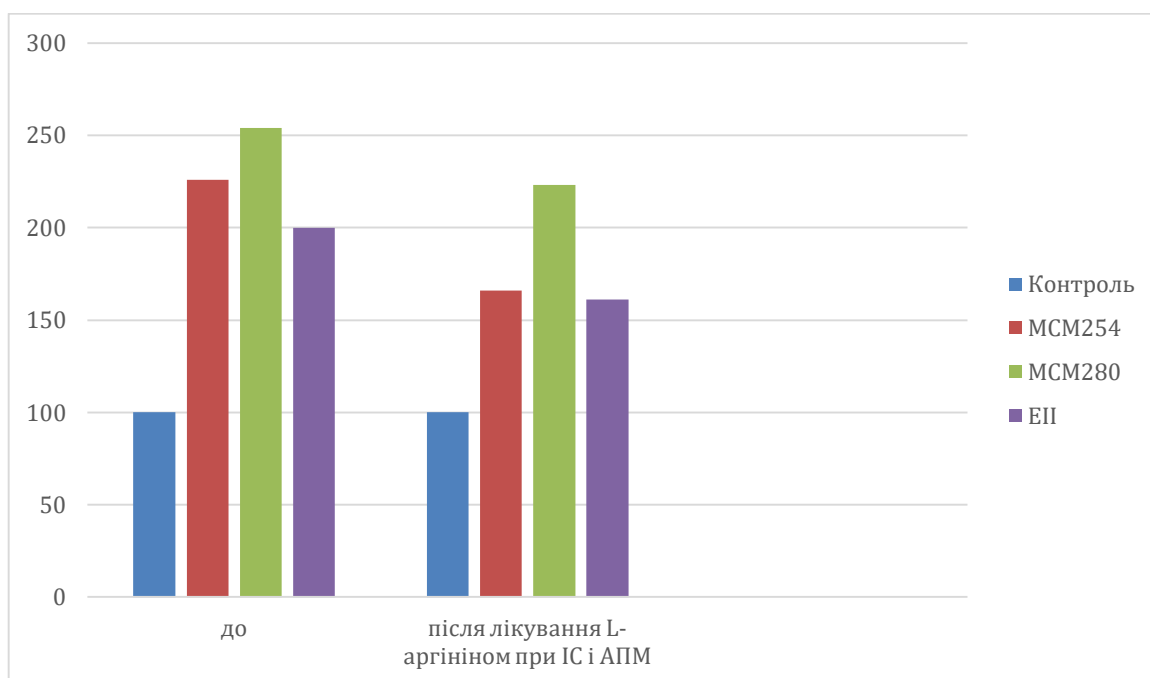


Рисунок 4.4. – Вплив препарату L-аргініну на порушені маркери ендогенної інтоксикації в крові тварин (в % на 5-ту добу до та після лікування) при ІС та АПМ

Отже, на основі отриманих нами результатів дослідження, які наведені у цьому розділі дисертації були зроблені такі проміжні висновки:

1. На усіх періодах розвитку іммобілізаційного стресу (на 1-у, 3-ю і 5-у) відбувається зростання вмісту маркерів ендогенної інтоксикації з найбільш суттєвим їх підвищенням на 1-у добу відносно контролю.

2. Адреналінове пошкодження міокарда характеризується стрімким підвищенням процесів ендогенної інтоксикації з домінуванням на 1-у добу експерименту проти контролю.

3. Маніфестація поєднаної патології - ІС і АПМ (1-а, 3-а і 5-а доби) супроводжується зростанням показників ендогенної інтоксикації в крові,

які особливо переважали на 1-у добу експерименту при порівнянні з першою групою тварин.

4. Застосування препарату L-аргініну зумовлювало зниження рівня $\text{MCM}_{254, 280}$ і ЕП в крові при ІС та АПМ проти маркерів тварин з поєднаною патологією до лікування.

Результати досліджень цього розділу дисертації відображені у 4 наступних наукових працях [66, 68, 184, 185].

РОЗДІЛ 5

АКТИВНІСТЬ ТРАНСАМІНАЗ В КРОВІ ПРИ ПОЄДНАНІЙ ПАТОЛОГІЇ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ ТА АДРЕНАЛІНОВОМУ ПОШКОДЖЕННІ МІОКАРДА В ДИНАМІЦІ ЇХ РОЗВИТКУ ТА КОРЕКЦІЯ L-АРГІНІНОМ

Відомо з літератури, що аланінамінотрансфераза (АЛТ) та аспартатамінотрансфераза (АСТ) – найдостовірніші маркери пошкодження клітин та некрозу печінки. АЛТ вважається специфічнішим для захворювань печінки, оскільки ці ферменти переважно знаходяться в її цитозолі. Розрізняють цитозольну та мітохондріальну ізоформи АСТ, які містяться в печінці, серці, скелетних м'язах, нирках, головному мозку, підшлунковій залозі, легенях, лейкоцитах та еритроцитах. Підвищення рівня АСТ та АЛТ трапляється не тільки за печінкової патології, але під час захворювань серцево-судинної та ендокринної систем [27, 30, 35, 54, 201]. Ще одним етіологічним фактором підвищення рівня трансаміназ є пошкодження м'язів. Надмірне фізичне навантаження або міопатія можуть викликати їх підвищення (особливо АСТ) без іншої симптоматики. На сьогодні, не вивченні є питання, які стосуються змін активності трансаміназ у крові в умовах іммобілізаційного стресу (ІС) та адреналінового пошкодження міокарда (АПМ) і вплив на них препарату L-аргініна.

У цьому контексті слід зазначити, що L-аргінін володіє гепатопротекторними властивостями, призводить до зниження в'язкості зон білково-ліпідного контакту і підвищуючи активність мембранозв'язуючого фермента цитохрома Р-450, який забезпечує детоксикаційну функцію печінки [4]. Встановлений позитивний вплив L-аргініну на прооксидантно-антиоксидантний баланс при ішемії/реперфузії у дорослих кроликів-самців та покращує функцію серця у пацієнтів з

серцевою недостатністю. Ефективність L-аргініну в клінічній гепатології не викликає сумнівів.

Тому метою нашого дослідження у п'ятому розділі дисертації було визначення активності АСТ і АЛТ в крові в динаміці формування ІС і АПМ до та після лікування L-аргініном.

Результати досліджень п'ятого розділу подані в 7 таблицях і 4 рисунках.

5.1. Активність трансаміназ в крові тварин в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу

У цьому підрозділі дисертаційної роботи вивчали активність аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази в крові тварин в динаміці (1-а, 3-я, 5-а доби) формування іммобілізаційного стресу (табл. 5.1-5.2; рис. 5.1).

Таблиця 5.1 – Активність аланінамінотрансферази у крові тварин за умов іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	АЛТ ммоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,40 \pm 0,02$
Тварини з ІС (до лікування)	1-а доба	10	$0,62 \pm 0,03$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$0,78 \pm 0,04$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$0,60 \pm 0,03$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС з результатами у контрольній групі.			

Результати наших досліджень показали, що за умов іммобілізаційного стресу до лікування активність у крові показників АЛТ та АСТ

збільшувалася впродовж 5-ти діб експерименту. А саме, активність АЛТ зросла на 55,0 % ($p<0,05$), порівняно з контрольною групою на 1-шу добу експерименту. Далі на 3-ю добу іммобілізаційного стресу, встановили, що активність цього ензиму у крові підвищилася на 95,0 % ($p<0,05$), і в найпізніший термін на 5-у добу експерименту активність АЛТ, дещо знизилася, але залишалася вищою – на 50,0 % ($p<0,05$) порівняно з першою групою тварин. Ці зміни активності АЛТ детально показано в таблиці 5.1 і рисунку 5.1.

Визначення іншого ферменту з групи трансаміназ – АСТ в крові показало, що він зазнав аналогічних змін, як і активність АЛТ при ІС.

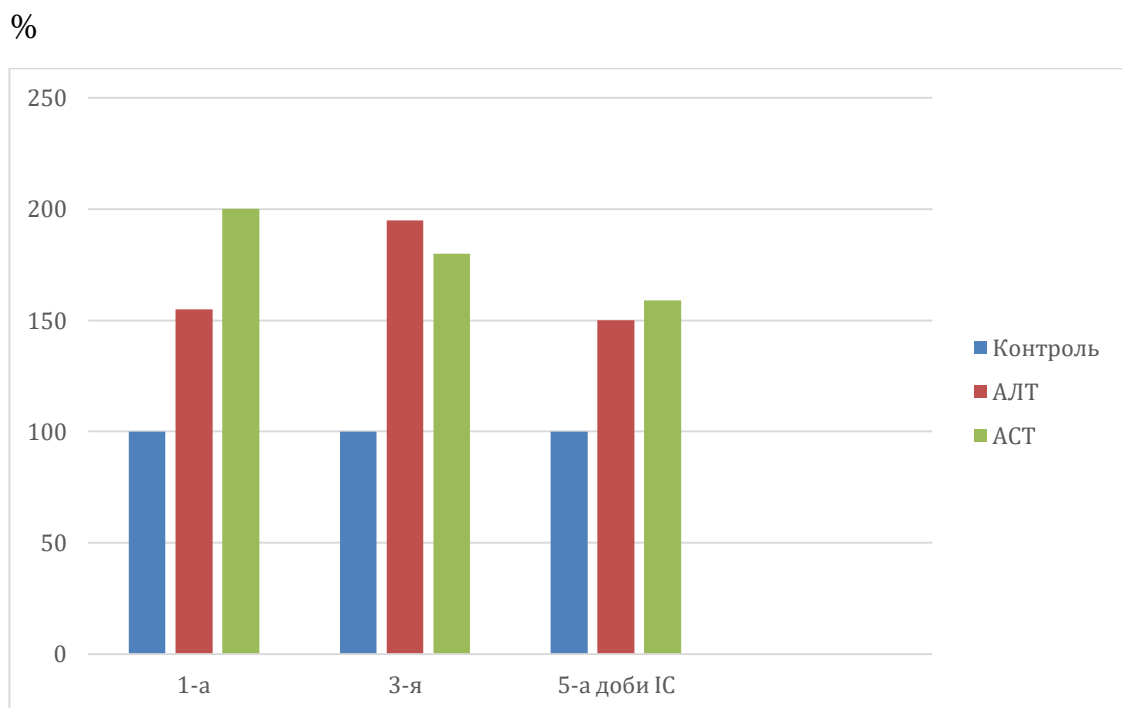


Рисунок 5.1. – Активність трансаміназ в крові при ІС (у % від контролю)

У процесі розвитку ІС (1-а доба) відбувалося різке зростання активності в сироватці крові цього ферменту на 100,0 % ($p<0,05$), пізніше на 3-ю добу експерименту активність АСТ зросла на 80,2 % ($p<0,05$) проти контролю. Цей показник досягнув зростаючої активності на 5-у добу

експерименту – на 59,3 % ($p < 0,05$) в порівнянні з даними інтактної групи тварин (табл.5.2; рис. 5.1).

Таблиця 5.2– Активність аспартатамінотрансферази у крові тварин за умов іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	АСТ ммоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,96 \pm 0,04$
Тварини з ІС (до лікування)	1-а доба	10	$1,92 \pm 0,08$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$1,73 \pm 0,08$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$1,53 \pm 0,07$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС з результатами у контрольній групі.			

Отже, визначення активності АЛТ та АСТ в динаміці формування ІС (1-а, 3-а і 5-а доби) показало, що тривалість дії стресорного фактору помітно впливає на рівень у крові цих ферментів. Найбільш виражене їх підвищення було пов'язано з ранній періодом розвитку іммобілізаційного стресу.

Це дозволяє зробити висновок, що активність трансаміназ дещо відрізнялася від контрольної групи щурів, в умовах іммобілізаційного стресу перманентно зростають протягом всього періоду спостереження з перевагою на першу і третю доби експерименту. Це зумовлено збільшенням проникності клітинних мембран гепатоцитів та пошкодженням мітохондріальних мембран і надходженням внутрішньоклітинних ензимів у кров'яне русло за умов формування ІС.

5.2 Активність трансаміназ в крові тварин в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда

Відомо, що трансамінази служать важливими маркерами пошкодження клітин. Тому ми їх досліджували в динаміці формування адреналінового пошкодження міокарда [27, 30, 35].

Нами встановлено, що рівень АЛТ носив одновекторний характер, який різко зростав на усіх етапах розвитку АПМ (1-а, 3-я і 5-а доби) відповідно підвищувався на 150,0% ($p<0,05$) і 175,0% ($p<0,05$) на 125,0% ($p<0,05$) відносно контролю, що дає підстави стверджувати про активізацію пошкоджуючих факторів на мембрани клітин і виходом ферментів у кров і (табл. 5.3; рис. 5.2).

Таблиця 5.3 – Активність аланінамінотрансфери у крові тварин за умов адреналінового пошкодження міокарда ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	АЛТ ммоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,40\pm0,02$
Тварини з АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$1,0\pm0,04$ $p<0,05$
	3-а доба	10	$1,1\pm0,04$ $p<0,05$
	5-а доба	10	$0,90\pm0,03$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Не менш суттєву роль для визначення пошкоджуючого впливу на гепатоцити відіграє АСТ. Нами виявило підвищення її рівня на 191,6% ($p<0,05$), 160,4% ($p<0,05$), 118,7% ($p<0,05$) відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби маніфестації адреналінового пошкодження міокарда відносно першої групи тварин (табл. 5.4; рис. 5.2).

Таблиця 5.4 – Активність аспартатамінотрансферази у крові тварин за умов адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	АСТ ммоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,96 \pm 0,04$
Тварини з АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$2,8 \pm 0,08$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$2,5 \pm 0,08$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$2,1 \pm 0,07$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Отже, одержані нами результати досліджень активності АЛТ та АСТ вказують на їх різке підвищення в крові в залежності від термінів спостереження і досягали максимальної активності АЛТ на 3-у добу експерименту та АСТ на 1-у добу розвитку АПМ.

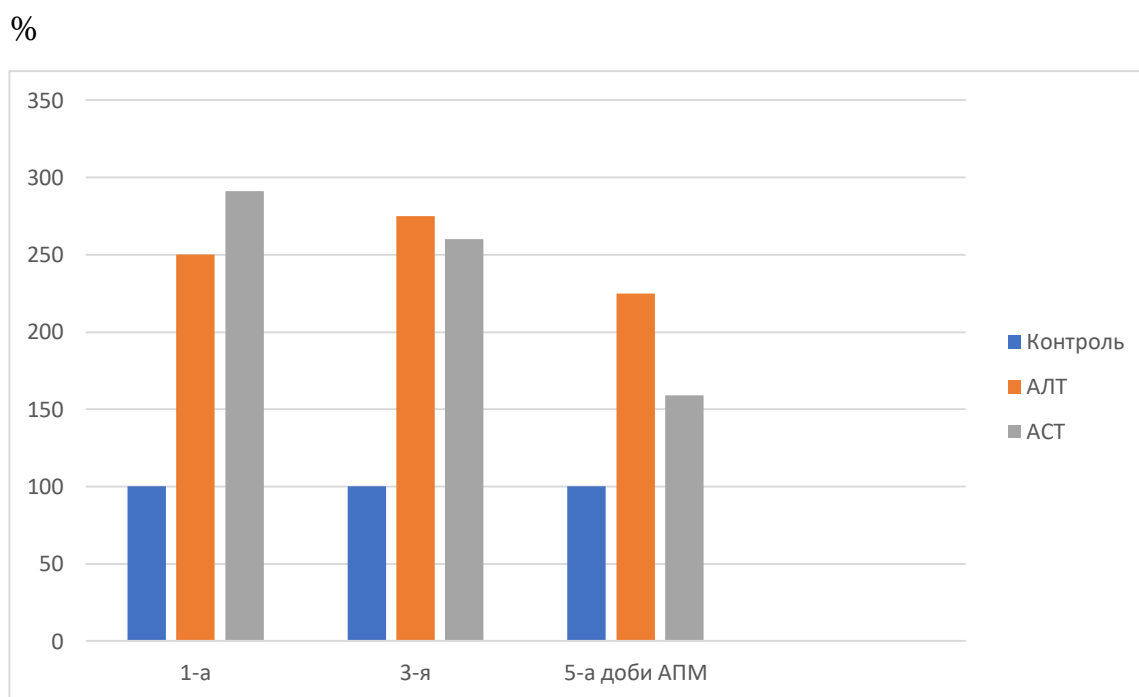


Рисунок 5.2. – Активність трансаміназ в крові при АПМ (у % від контролю)

5.3 Активність трансаміназ в крові тварин в динаміці розвитку поєднаної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда

У попередніх двох підрозділах дисертації були висвітлені питання, які стосувалися змін показників активності трансаміназ за умов ізольованих патологій – іммобілізаційного стресу і адреналінового пошкодження міокарда.

Завданням цього підрозділу було вивчити особливості порушень трансаміназ в крові у динаміці (1-а, 3-а і 5-а доби) формування поєднаної патології – іммобілізаційного стресу і адреналінового пошкодження міокарда (до лікування), що дозволяють охарактеризувати стан клітинних мембран у динаміці цих експериментальних моделей хвороб.

Таблиця 5.5 – Активність аланінамінотрансфери у крові тварин за умов поєднаної патології – ІС та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	АЛТ ммоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,40 \pm 0,02$
Тварини з ІС та АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$1,56 \pm 0,06$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$1,42 \pm 0,06$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$1,31 \pm 0,05$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС та АПМ з результатами у контрольній групі.			

Результати наших біохімічних досліджень показали, що за умов поєднаної патології (ІС та АПМ) відбуваються суттєві зміни активності

трансамінах у всі періоди їх розвитку. Зокрема, активність АЛТ підвищився на 290,0 % ($p<0,05$) проти контролю на 1-ту добу експерименту. У дослідних групах на 3-у та 5-ту доби експерименту, яким моделювали ІС та АПМ. Зазначений ензим зріс в крові на 255,0 ($p<0,05$) та на 227,5% відповідно, проти інтактної групи тварин, що показано на табл. 5.5 та рис. 5.3.

Інший показник трансаміназ – АСТ в крові на 1-шу добу ІС та АПМ зріс на 118,7 % ($p<0,05$) відносно інтактної групи. Пізніше на 3-ю добу експерименту цей показник підвищився на 77,0 % ($p<0,05$) проти контрольної групи. У найпізніший термін нашого спостереження (5-а доба) відбувалося зростання цього ферменту на 66,6 % ($p<0,05$), проте в меншому ступені вираження порівняно з контрольною групою (табл. 5.6; рис 5.3).

Таблиця 5.6 – Активність аспартатамінотрансферази у крові тварин за умов поєднаної патології – ІС і АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	АСТ ммоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,96\pm0,04$
Тварини з ІС та АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$2,1\pm0,08$ $p<0,05$
	3-а доба	10	$1,7\pm0,08$ $p<0,05$
	5-а доба	10	$1,6\pm0,07$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ІС та АПМ з результатами у контрольній групі.			

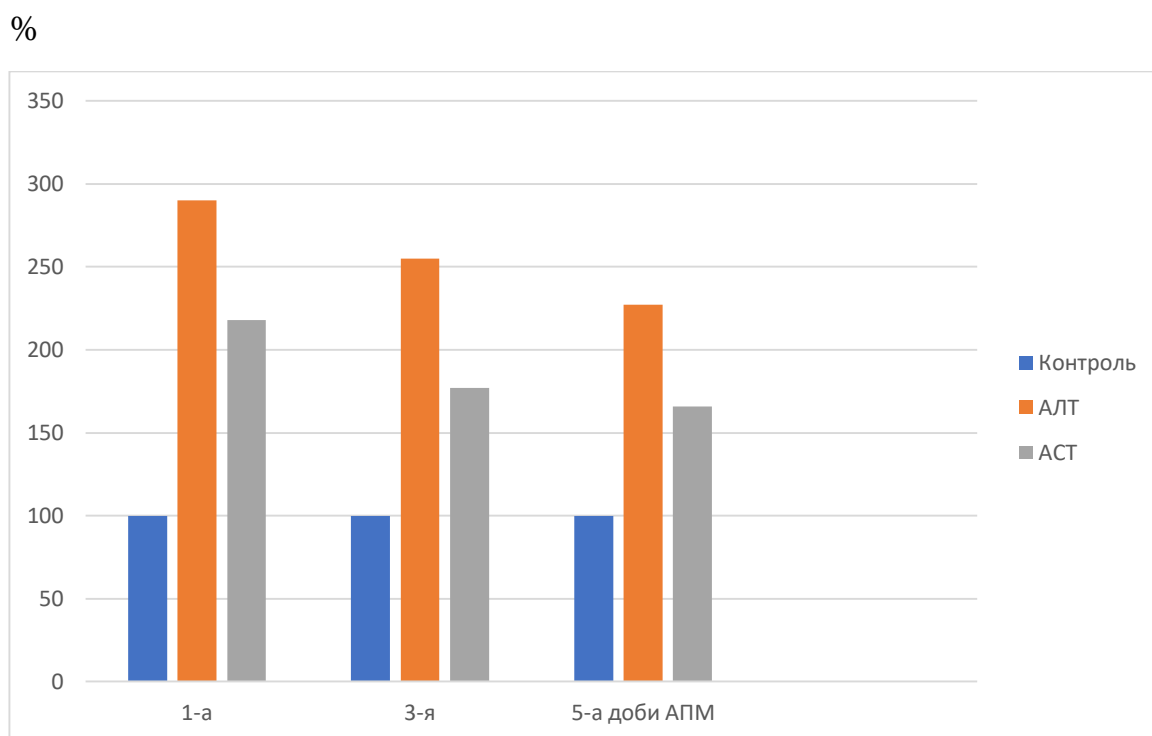


Рисунок 5.3. – Активність трансаміназ в крові при ІС і АПМ (у % від контролю)

Таким чином, здійснений ряд біохімічних досліджень у щурів показав певні закономірності щодо активності трансаміназ в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда. А саме виявлено підвищення активності АЛТ та АСТ починаючи з 1-ї доби експерименту під час формування поєднаної патології (ІС та АПМ), було встановлено пошкодження мембран клітин і залежало від стресогенного навантаження (ІС) в умовах адреналінового пошкодження міокарда. Одержані нами результати досліджень є яскравим свідченням участі і ролі трансаміназ в механізмі формування ІС та АПМ і служать важливою основою для обґрунтування патогенетичної терапії.

5.4 Вплив L-аргініну на активність трансаміназ в крові в динаміці розвитку поєднаної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда

Завданням цього підрозділу було з'ясувати вплив L-аргініну на активність трансаміназ в крові на 5-у добу розвитку ІС і АПМ.

Результати досліджень відображені в одній таблиці одному рисунку.

Попередні дослідження активності трансаміназ в крові на 5-у добу поєднаної патології (ІС і АПМ) до лікування показало підвищення АЛТ на 227,5 % ($p < 0,001$) і АСТ на 66,6 % ($p < 0,05$) проти контролю, що вказують на пошкодження мембранних структур клітин та виходом цих ферментів з клітин в крові (табл. 5.7).

Застосування L-аргініну у дозі 150 мг/кг маси тіла внутрішньом'язово впродовж 5 днів (з 1-ї по 5-у доби) формування ІС і АПМ призводило до зниження активності АЛТ на 60,0% ($p < 0,05$) і АСТ на 68,7 % ($p < 0,05$) відносно групи тварин з цими експериментальними моделями хвороби на 5-у добу до лікування, що свідчить про його коригуючий вплив на порушені показники трансаміназ (табл. 5.7; рис. 5.4).

Таблиця 5.7– Вплив L-аргініну на активність АЛТ і АСТ в крові тварин на 5-у добу розвитку ІС і АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	АЛТ ммоль/л	АСТ в ммоль/л
Інтактні щурі-самці	10	0,40±0,02	0,96±0,04
ІС та АПМ на 5-у добу експерименту (до лікування)	10	1,31±,07 $p < 0,05$	1,6±0,08 $p < 0,05$
ІС та АПМ на 5-у добу експерименту (після лікування L-аргініном)	10	0,52±0,02 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,5±0,02 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ІС і АПМ з результатами у контрольній групі; Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні результатів ІС і АПМ до та після лікування на 5-у добу експерименту.			

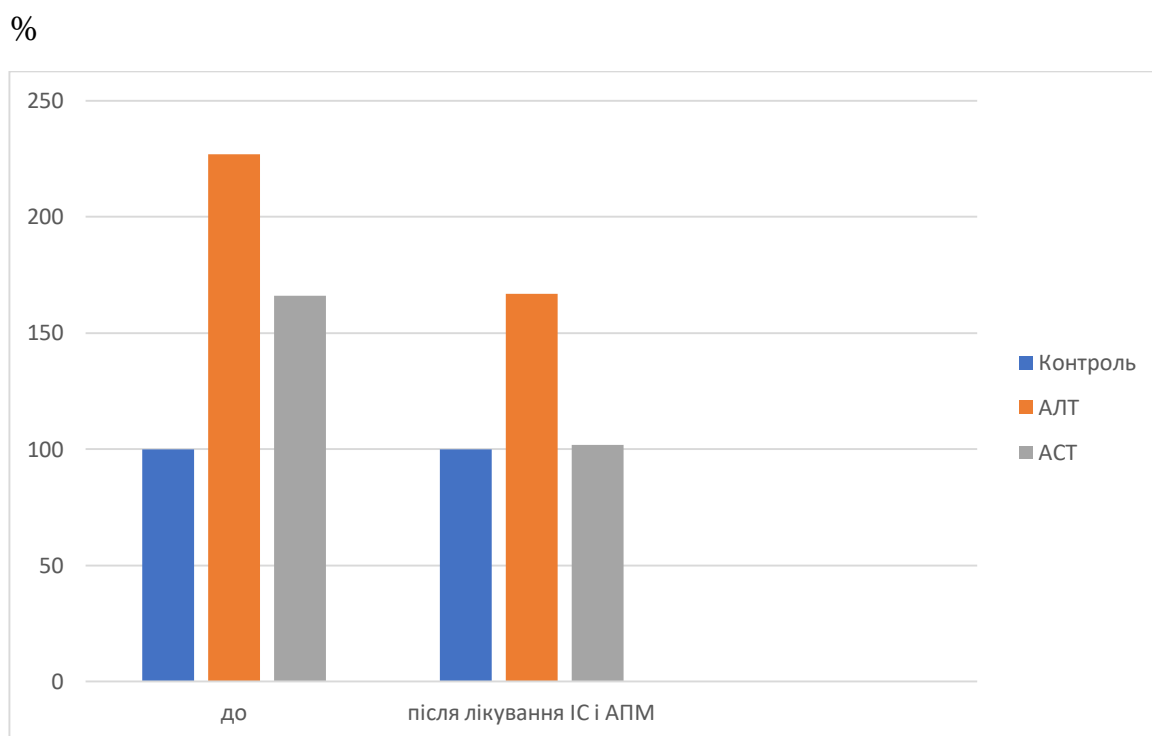


Рисунок 5.4. – Вплив L-аргініну на активність трансаміназ в крові при ІС і АПМ на 5-добу експерименту (% порівняння до та після лікування).

Підсумовуючи проведені нами комплексні біохімічні дослідження у тварин з ІС і АПМ встановлено порушення трансаміназ в усі періоди їх формування з особливими їх змінами на 1-у і 3-у доби експерименту до лікування. Застосування препарату L-аргініну спричиняло мембранокоригуючий вплив на показники трансаміназ в крові за умов розвитку поєднаної патології.

З огляду на це можна стверджувати, що L-аргінін таким чином впливаючи позитивно на показники трансаміназ зменшує адреналінове пошкодження та стрес на клітини міокарда, попереджуючи розвиток різноманітних ускладнень та покращує їх перебіг і прогноз.

Отже на підставі одержаних нами результатів дослідження, які наведені у даному розділі дисертації були зроблені такі проміжні висновки:

1. Маніфестація іммобілізаційного стресу викликає суттєві порушення активності трансаміназ в крові, які проявлялися їх зростанням

на усіх етапах його розвитку з перевагою у ранні періоди експерименту (1-а, 3-я доби) відносно першої групи тварин.

2. Адреналінове пошкодження міокарда супроводжується підвищенням активності АЛТ і АС в крові на всіх періодах його формування з перевагою на 1-у і 3-ю доби експерименту проти контролю.

3. Поєднана патологія (ІС і АПМ) характеризується стабільною гіперактивністю трансаміназ впродовж усіх етапів нашого спостереження з домінуванням на 1-у добу експерименту в порівнянні з інтактною групою тварин.

4. Використання L-аргініну призводило до зниження активності трансаміназ в крові за умов розвитку ІС та АПМ на 5-у добу експерименту, що вказувало на його коригувальний вплив на порушені показники метаболічних процесів.

Результати досліджень даного розділу дисертації опубліковані у 3 таких наукових працях [64, 65, 67].

РОЗДІЛ 6

СТАН СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ В КРОВІ ТА МІОКАРДІ ПРИ ПОЄДНАНІЙ ПАТОЛОГІЇ - ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ ТА АДРЕНАЛІНОВОМУ ПОШКОДЖЕННІ МІОКАРДА В ДИНАМІЦІ ЇХ РОЗВИТКУ ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ ПОРУШЕНЬ L-АРГІНІНОМ

Літературні джерела свідчать про те, що система стресу - це регуляторна система, яка представлена трьома складовими: нервовою, ендокринною та імунною, дія якої спрямована на підтримання гомеостазу. Механізми стресу в органах серцево-судинної системи пов'язані з посиленням вироблення гормонів стресу наднирковими залозами, головним чином катехоламінами, які, впливаючи на α -адренорецептори, призводять до звуження судин, порушення кровопостачання тканин та індукують розвиток нітрозоксидативних процесів. Катехоламіни, що виділяються у відповідь на активацію симпато-надниркової системи, разом з вегетативною нервовою системою мають регуляторний вплив на серцево-судинну та імунну системи, легені, печінку та скелетні м'язи [1, 4, 20, 21, 24, 101, 122].

У фізіологічних умовах в ендотеліоцитах кровоносних судин NO синтезується у низьких концентраціях за допомогою конститутивної NOS, потім дифундує у гладку мускулатуру судин, де реагує з розчинним гуанілатциклазним гемом (sGC), що призводить до утворення вторинного месенджера - циклічного гуанозинмонофосфату (sGMP)). Відомо, що останній діє через протеїнкіназу G і призводить до розслаблення гладком'язових клітин та розширення судин та збільшення припливу крові до органів. Оксид азоту (NO) - важлива внутрішньоклітинна та міжклітинна сигнальна молекула, яка бере участь у регуляції різних фізіологічних та патофізіологічних процесів у серцево -судинній, нервовій, імунній та травній системах. Обмін аргініну залежить від активності середовищ ферментів оксиду азоту синтатази та аргінази. Синтетаза оксиду азоту

оксидує аргінін до цитруліну та NO, а аргіназа гідролізує аргінін до орнітину та сечовини. Виходячи з вищенаведеного, дослідження нами показників системи NO має важливе значення для вивчення механізмів формування ІС і АПМ [1, 4, 20, 24, 44, 101, 122].

6.1 Особливості змін активності показників системи NO та L-аргініну в крові та міокарді тварин в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу

Для вивчення стану системи оксиду азоту в крові і міокарді при ІС проводили біохімічні дослідження щодо вмісту стабільних метаболітів, сумарної активності NOS і L-аргініну.

Результати досліджень представлені в двох таблицях і двох рисунках.

Таблиця 6.1. – Рівень показників системи NO та L-аргініну в крові щурів у динаміці розвитку іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Стаб. мет. в мкмоль/л	Сум. актив. NOS в хв/мл	L-аргінін в мкмоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$16,8 \pm 2,7$	$0,65 \pm 0,1$	$43,2 \pm 5,1$
Тварини з ІС (до лікування)	1-а доба	10	$28,9 \pm 3,7$ $p < 0,05$	$1,1 \pm 0,2$ $p < 0,05$	$50,1 \pm 5,6$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$24,1 \pm 3,2$ $p < 0,05$	$0,96 \pm 0,2$ $p < 0,05$	$28,4 \pm 4,2$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$21,5 \pm 2,9$ $p < 0,05$	$0,86 \pm 0,1$ $p < 0,05$	$29,5 \pm 4,2$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при ІС з результатами у контрольній групі.					

Було встановлено зростання активності стабільних метаболітів NO в крові на 72,0 % ($p<0,05$), 43,4 % ($p<0,05$) і 27,9 % ($p<0,05$) відповідно на 1-у, 3-ю і 5-ю доби ІС проти контролю. Аналогічно зростала сумарна активність NO синтаз в крові на 69,2% ($p<0,05$) на 1-у добу, на 47,6 % ($p<0,05$) і 32,3 % ($p<0,05$) відповідно на 3-ю і 5-ю доби експерименту відносно першої групи тварин, що свідчило про стимуляцію активності показників NO системи в умовах іммобілізаційного стресу. Рівень ендogenous L-аргініну в крові щурів, протягом 1-ої доби експерименту незначно зростав на 15,9% ($p<0,05$), а далі на 3-ю і 5-ю доби навпаки зменшувався на 34,2 % ($p<0,05$) і 31,7 % ($p<0,05$) порівняно з інтактною групою тварин (табл. 6.1; рис. 6.1).

Визначення показників системи NO в міокарді в динаміці розвитку ІС показало однонаправлений вектор змін – зростання стабільних метаболітів NOS на тлі зниження рівня L-аргініну. Результати досліджень показали, що активність стабільних метаболітів NO на 1-у добу ІС зросла на 60,0 % ($p<0,05$) в міокарді відносно інтактної групи. Пізніше на 3-ю добу експерименту активність цих метаболітів підвищилася на 40,0 % ($p<0,05$) проти контрольної групи. Далі на 5-у добу експерименту в групі тварин спостерігали зростання стабільних метаболітів на 33,3 % ($p<0,05$) порівняно з першою групою тварин. Дослідження сумарної активності NO синтаз показала зростання її на 70,0 % ($p<0,05$), на 1-у добу експерименту відносно інтактної групи. Пізніше на 3-ю та 5-ю доби експерименту активність NO синтаз відповідно підвищувалася на 60,0 % ($p<0,05$) та 50,0 % ($p<0,05$) проти першої групи тварин. Рівень L-аргініну в міокарді щурів, протягом 1-ї доби експерименту зріс на 20,0% ($p<0,05$), а далі на 3-ю і 5-ю доби навпаки спостерігалось зменшення на 20,0 % ($p<0,05$) і 24,0 % ($p<0,05$) порівняно з контрольною групою щурів (табл. 6. 2, рис 6.2).

Таблиця 6.2 – Стан системи NO та L-аргініну в міокарді щурів у динаміці розвитку іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Стаб. мет. в мкмоль/мг білка	Сум. актив. NOS в хв/мг білка	L-аргінін в мкмоль/мг білка
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,03 \pm 0,002$	$0,10 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,007$
Тварини з ІС (до лікування)	1-а доба	10	$0,048 \pm 0,002$ $p < 0,05$	$0,17 \pm 0,02$ $p < 0,05$	$0,06 \pm 0,008$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$0,042 \pm 0,001$ $p < 0,05$	$0,16 \pm 0,02$ $p < 0,05$	$0,04 \pm 0,006$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$0,040 \pm 0,001$ $p < 0,05$	$0,15 \pm 0,02$ $p < 0,05$	$0,038 \pm 0,006$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при ІС з результатами у контрольній групі.					

%

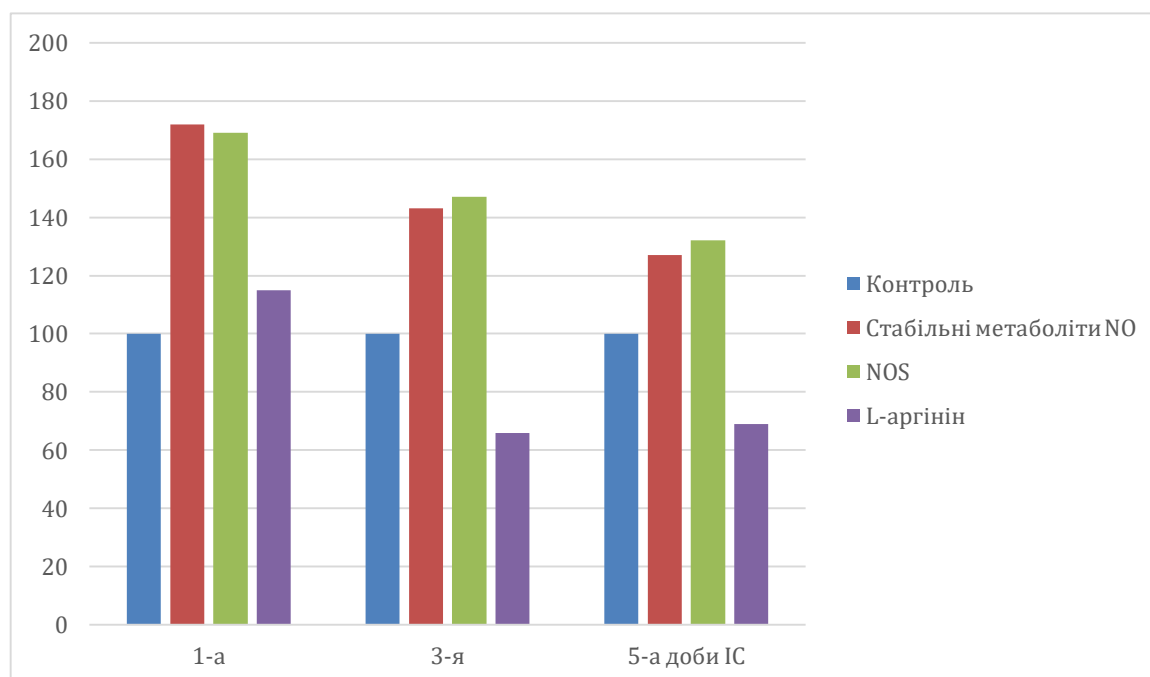


Рисунок 6.1 – Показники системи NO в крові в динаміці розвитку ІС (у % від контролю)

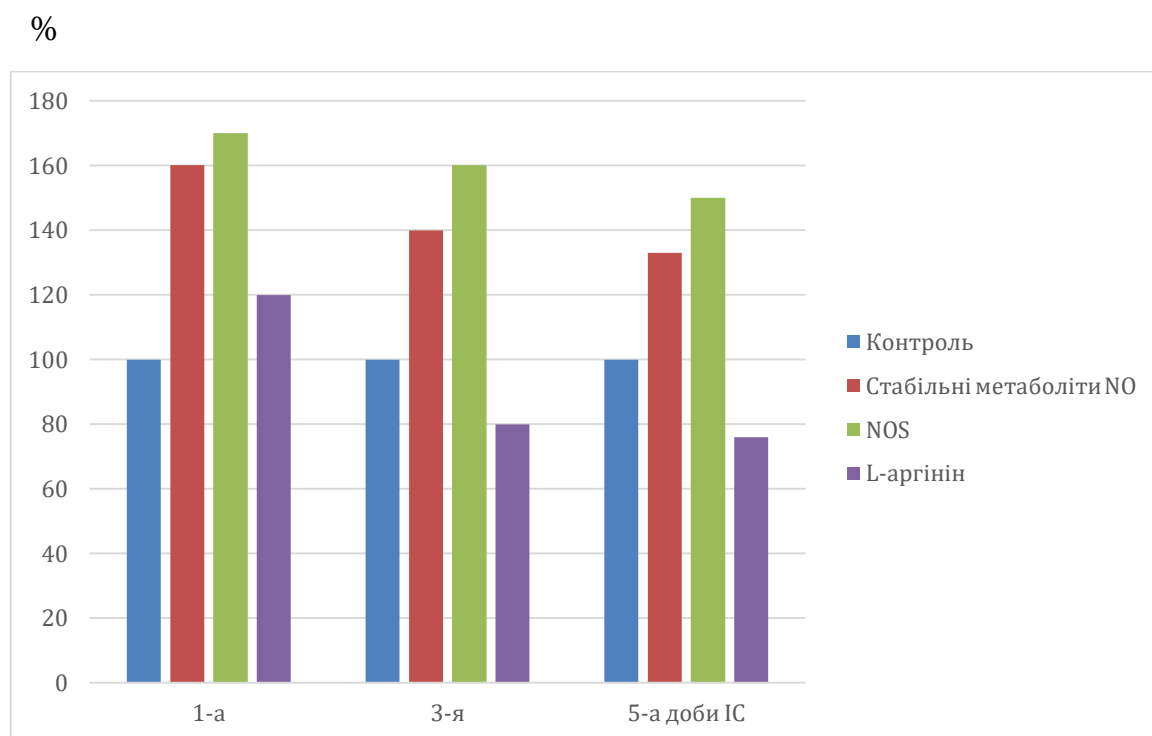


Рисунок 6.2 – Зміна маркерів системи NO в міокарді в динаміці розвитку ІС (у % від контролю)

Отже, одержані нами результати біохімічних досліджень вказують на те, що ІС супроводжується порушеннями метаболічних процесів, які проявляються на усіх етапах експерименту – зростанням концентрації стабільних метаболітів NO і активності NOS на тлі зниження вмісту L-аргініну в крові і в міокарді.

6.2 Порушення показників системи NO та L-аргініну в крові та міокарді тварин в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда

У другому підрозділі шостого розділу висвітлюються активність показників системи NO та L-аргініну в крові і міокарді за умов розвитку експериментального адреналінового пошкодження міокарда. Для цього були проведені дослідження вмісту стабільних метаболітів NO, сумарної активності NO синтаз, рівня ендogenous L-аргініну у крові щурів-самців

лінії Вістар в динаміці (1-а, 3-а і 5-а доби) формування цієї експериментальної моделі хвороби.

Результати досліджень цього підрозділу представлені в 2 таблицях та 2 рисунках.

Біохімічні дослідження були розпочаті із визначення активності стабільних метаболітів NO у крові в ранні (1-а і 3-а доби) етапи, АПМ активність яких була вищою на 76,8 % ($p<0,05$) та 57,7 % ($p<0,05$) порівняно з контрольною групою. На 5-у добу розвитку експериментального адреналінового пошкодження міокарда, вміст стабільних метаболітів був на 35,1 % ($p<0,05$) вище від інтактної групи тварин (табл. 6.3; рис. 6.3).

В подальшому дослідженні була визначена сумарна активність NO синтаз, в крові рівень яких впродовж експерименту (1-а, 3-я і 5-а доби) була на 100,0% ($p<0,05$), 84,6 % ($p<0,05$) та 49,2 % ($p<0,05$) вище від контрольної групи (табл. 6.3; рис. 6.3).

Таблиця 6.3 – Рівень показників системи NO та L-аргініну в крові щурів у динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Стаб. мет. в мкмоль/л	Сум. актив. NOS в хв/мл	L-аргінін в мкмоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$16,8 \pm 2,7$	$0,65 \pm 0,1$	$43,2 \pm 5,1$
Тварини з АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$29,7 \pm 3,8$ $p<0,05$	$1,30 \pm 0,3$ $p<0,05$	$49,8 \pm 5,6$ $p<0,05$
	3-а доба	10	$26,5 \pm 3,4$ $p<0,05$	$1,20 \pm 0,2$ $p<0,05$	$28,0 \pm 4,2$ $p<0,05$
	5-а доба	10	$22,7 \pm 3,1$ $p<0,05$	$0,97 \pm 0,2$ $p<0,05$	$30,2 \pm 4,3$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при АПМ з результатами у контрольній групі.					

Концентрація L-аргініну в крові щурів, протягом 1-ї доби АПМ зросла в крові на 15,2% ($p<0,05$), а пізніше на 3-ю і 5-у доби експерименту навпаки зменшився на 35,1 % ($p<0,05$) і 30,0 % ($p<0,05$) порівняно з контрольною групою тварин (табл. 6.3, рис 6.3).

Таблиця 6.4 – Рівень показників системи NO та L-аргініну в міокарді щурів у динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Стаб. мет. в мкмоль/мг білка	Сум. актив. NOS в хв/мг білка	L-аргінін в мкмоль/мг білка
Інтактні щурів-самці	Контроль	10	$0,03\pm 0,002$	$0,10 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,007$
Тварини з АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$0,053 \pm 0,003$ $p<0,05$	$0,18\pm 0,02$ $p<0,05$	$0,07\pm 0,008$ $p<0,05$
	3-а доба	10	$0,046\pm 0,002$ $p<0,05$	$0,17\pm 0,02$ $p<0,05$	$0,03\pm 0,006$ $p<0,05$
	5-а доба	10	$0,044\pm 0,003$ $p<0,05$	$0,16\pm 0,02$ $p<0,05$	$0,031\pm 0,006$ $p<0,05$
Примітка. р – достовірність різниці показників при АПМ з результатами у контрольній групі.					

Важливе значення для розуміння особливостей порушень показників системи NO при АПМ має їх визначення не лише в крові, але в міокарді. Вміст стабільних метаболітів NO на 1-у добу АПМ в міокарді зросла на 76,6 % ($p<0,05$) відносно контрольної групи. На 3-ю добу експерименту концентрація цих метаболітів NO підвищилася на 53,3 % ($p<0,05$) проти інтактної групи тварин. На 5-у добу експерименту спостерігали зростання стабільних метаболітів NO на 46,6 % ($p<0,05$) порівняно з першою групою тварин. Визначення сумарної активності NO синтаз на 1-у добу АПМ

показало, що вона зросла на 80,0 % ($p<0,05$), відносно інтактної групи. Далі на 3-ю та 5-у доби експерименту активність NO синтаз була підвищеною на 70,0 % ($p<0,05$) та 60,0 % ($p<0,05$) відповідно проти контрольної групи. Рівень L-аргініну в міокарді щурів, протягом 1-ї доби експерименту зріс на 40,0% ($p<0,05$), а пізніше на 3-ю і 5-у доби навпаки зменшився відовідно на 40,0 % ($p<0,05$) і 38,0 % ($p<0,05$) порівняно з контрольною групою (табл. 6.4, рис 6.4).

%

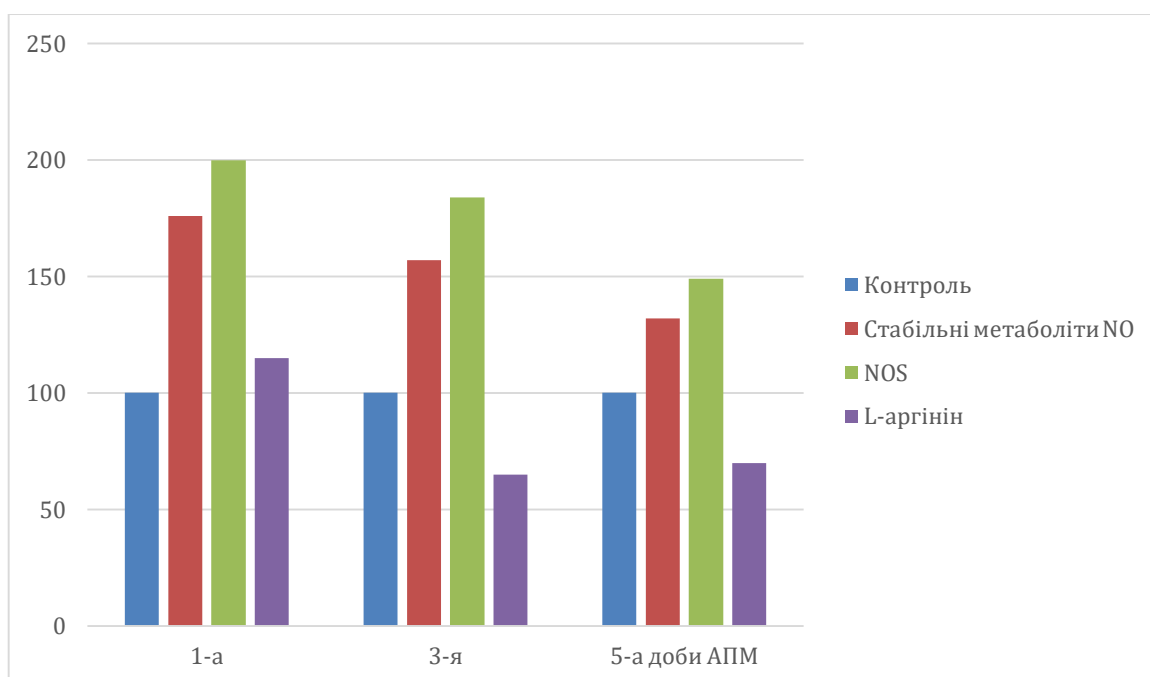


Рисунок 6.3 – Вміст показників системи NO в крові у динаміці розвитку АПМ (у % від контролю)

Таким чином, одержані нами результати досліджень активності показників системи NO при адреналіновому пошкодженні міокарда вказують на їх підвищення як в крові та і в міокарді на усіх етапах їх розвитку з перевагою у ранні періоди (1-а доба) на тлі зниження концентрації L-аргініну на 3-ю та 5-у доби дослідження відносно контрольної групи, що свідчить про використання резервів цієї

амінокислоти на утворення ферментів системи оксиду азоту при тривалому адреналіновому пошкодженні міокарда.

%

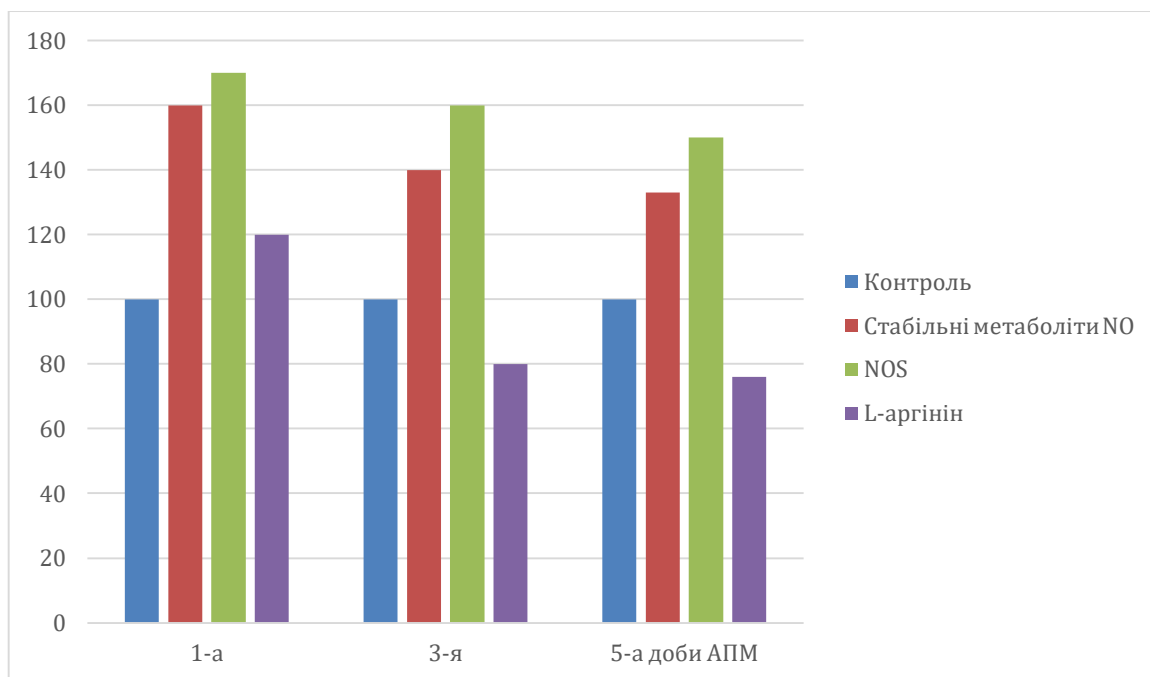


Рисунок 6.4 – Активність показників системи NO в міокарді при АПМ (у % від контролю)

6.3 Особливості порушень маркерів системи NO та L-аргініну в крові та міокарді тварин в динаміці формування іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда

Важливу роль у вивченні функції ендотелію відіграє визначення хімічної природи ендотеліального фактору релаксації за допомогою дослідження — оксида азота (NO). При цьому було встановлено, що більшість вазорегуляторних речовин діє на судинну стінку за допомогою універсального механізму — синтезу ендотелієм NO, який утворюється шляхом дії ферменту ендотеліальної NO-синтетази із L- аргініна [1, 4]. Він активує в гладком'язових клітинах гуанілатциклазу, яка стимулює синтез

циклічного гуанозинмонофосфата (цГМФ). цГМФ обумовлює розслаблення судин, гальмування активності тромбоцитів і макрофагів.

У третьому підрозділі шостого розділу висвітлюються питання щодо активності показників системи NO та вмісту L-аргініну в крові та міокарді у динаміці розвитку експериментальних іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.

Результати досліджень цього підрозділу представлені в 2 таблицях та 2 рисунках.

Проведені дослідження показали, що на 1-у і 3-ю доби при адреналіновому пошкодженні міокарду в умовах іммобілізаційного стресу відбулося підвищення вмісту стабільних метаболітів NO у крові відповідно на 95,8 % ($P < 0,05$) і 87,5 % ($P < 0,05$) відповідно до першої групи тварин. Згодом, на 5-ту добу ІС та АПМ зберігалось зростання рівня стабільних метаболітів NO у крові вище контролю на 79,2 % ($P < 0,05$).

Визначення в крові сумарної активності синтаз оксиду азоту (NOS) показало зростання їх на 1-у, 3-ю і 5-у доби, відповідно на 130,8% ($P < 0,05$), та 100,0%, ($P < 0,05$), та 84,6 ($P < 0,05$), за умов поєднаного впливу адреналінового пошкодження міокарду в умовах іммобілізаційного стресу проти контролю, що вказувало про пошкодження ендотеліальних клітин та вихід із них у кров NOS.

Рівень вільного L-аргініну в крові при АПМ в умовах ІС стресу на 1-у, 3-ю та 5-у доби експерименту набув діаметрально протилежних змін - знижувався відповідно на 32,6% ($P < 0,05$), 36,2% ($P < 0,05$) та 38,3% ($P < 0,05$) (до лікування) порівняно з контролем (табл. 6.5; рис. 6.5).

Наступні наші дослідження показників системи NO були проведені в міокарді при ІС та АПМ.

Встановлено, що на 1-у і 3-ю доби адреналінового пошкодження міокарда в умовах іммобілізаційного стресу вміст стабільних метаболітів NO підвищувався у міокарді відповідно на 96,6 % ($P < 0,05$) і 80,0 % ($P < 0,05$)

відповідно контролю. Згодом, на 5-у добу ІС та АПМ зберігалося зростання вмісту метаболітів NO у міокарді вище інтактної груп тварин на 70,0 % ($P<0,05$), що свідчило про пошкодження міокардіоцитів (табл. 6.6; рис. 6.6).

Таблиця 6.5 – Рівень показників системи NO та L-аргініну в крові щурів у динаміці розвитку поєднаної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Стаб. мет. в мкмоль/л	Сум. актив. NOS в хв/мл	L-аргінін в мкмоль/л
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$16,8 \pm 2,7$	$0,65 \pm 0,1$	$43,2 \pm 5,1$
Тварини з ІС та АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$32,9 \pm 3,9$ $p<0,05$	$1,50 \pm 0,1$ $p<0,05$	$29,1 \pm 4,2$ $p<0,05$
	3-а доба	10	$31,5 \pm 3,7$ $p<0,05$	$1,30 \pm 0,3$ $p<0,05$	$28,0 \pm 4,1$ $p<0,05$
	5-а доба	10	$30,1 \pm 3,6$ $p<0,05$	$1,20 \pm 0,2$ $p<0,05$	$27,1 \pm 3,9$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при ІС та АПМ з результатами у контрольній групі.					

Вивчення сумарної активності синтаз оксиду азоту (NOS) показало зростання їх у міокарді, на 1-у, 3-ю і 5-у доби, відповідно на 90,0% ($P<0,05$), та 80,0%, ($P<0,05$), та 70,0%, ($P<0,05$), за умов поєднаного впливу АПМ в умовах ІС впродовж зазначеного періоду експерименту, проти інтактної групи тварин (табл. 6.6; рис. 6.6).

Визначення концентрації L-аргініну в міокарді при адреналіновому пошкодженні міокарду в умовах іммобілізаційного стресу на 1-у, 3-ю та 5-у доби експерименту показало його зниження відповідно на 40,0% ($P<0,05$), 60,0% ($P<0,05$) та 64,0% ($P<0,05$) до лікування порівняно з першою групою тварин (табл. 6.6; рис. 6.6).

Отже, результати дослідження активності показників системи NO у тварин в динаміці розвитку поєднаної патології — ІС та АПМ на 1-у, 3-ю, 5-у доби, показали, що на усіх етапах їх формування відбувається різке надмірне зростання вмісту стабільних метаболітів NO та сумарної активності NO синтаз, на тлі суттєвого зниження рівня L-аргініну в крові і міокарді, що може вказувати на посилення ушкодження ендотелію судин та ішемії міокарда, яке має важливе значення для їх патогенезу.

Таблиця 6.6 – Рівень показників системи NO та L-аргініну в міокарді щурів у динаміці розвитку поєднаної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Стаб. мет. в мкмоль/мг білка	Сум. актив. NOS в хв/мг білка	L-аргінін в мкмоль/мг білка
Інтактні щурі-самці	Контроль	10	$0,03 \pm 0,002$	$0,10 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,007$
Тварини з ІС та АПМ (до лікування)	1-а доба	10	$0,059 \pm 0,003$ $p < 0,05$	$0,19 \pm 0,03$ $p < 0,05$	$0,03 \pm 0,005$ $p < 0,05$
	3-а доба	10	$0,054 \pm 0,004$ $p < 0,05$	$0,18 \pm 0,02$ $p < 0,05$	$0,02 \pm 0,004$ $p < 0,05$
	5-а доба	10	$0,051 \pm 0,004$ $p < 0,05$	$0,17 \pm 0,02$ $p < 0,05$	$0,018 \pm 0,003$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при ІС та АПМ з результатами у контрольній групі.					

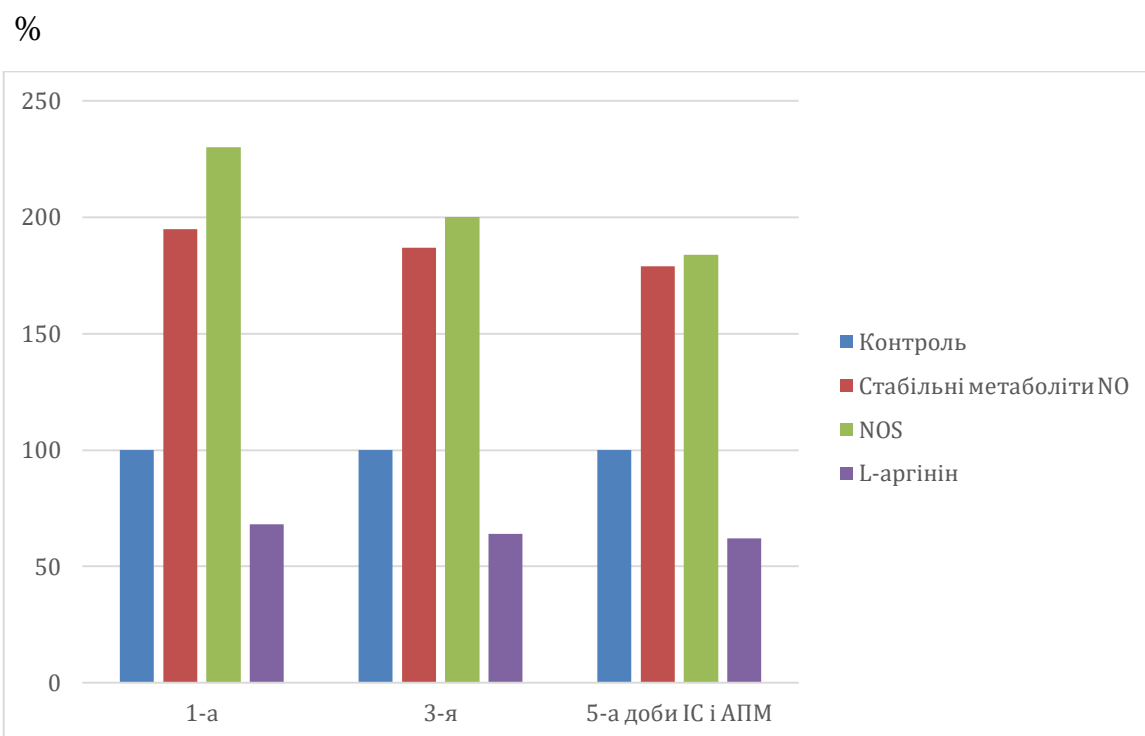


Рисунок 6.5 – Зміна показників системи NO і L-аргініну в крові при IC і АПМ (у % від контролю)

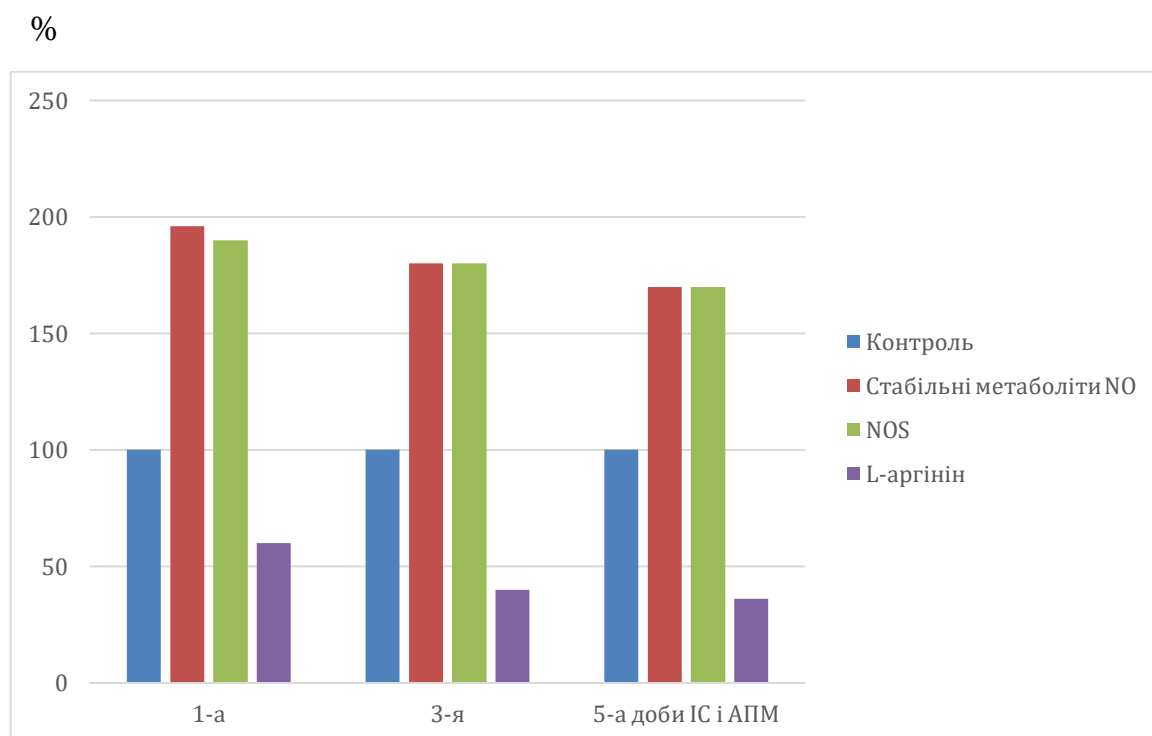


Рисунок 6.6 – Стан показників системи NO в міокарді при IC і АПМ (у % від контролю)

6.4 Вплив L-аргініну на порушені показники системи NO в крові та міокарді за умов формування поєднаної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда

Завданням цього підрозділу було з'ясувати вплив L-аргініну на вміст стабільних метаболітів NO і сумарну активність NO синтаз та рівень L-аргініну в крові на 5-у добу розвитку ІС і АПМ.

Результати досліджень відображені в двох таблицях і двох рисунках.

Попередні дослідження показників системи NO в крові на 5-у добу поєднаної патології (ІС і АПМ) до лікування показало підвищення рівня стабільних метаболітів NO на 79,2 % ($p < 0,05$) і сумарної активності NO синтаз на 84,6% ($p < 0,05$) та зниження концентрації вільного L-аргініну відповідно на 38,3% ($p < 0,05$) проти контролю, що вказують на пригнічення захистних факторів клітин в умовах надмірного викиду в кров продуктів метаболізму NO (табл. 6.7).

Таблиця 6.7. – Вплив L-аргініну на вміст показників системи NO та L-аргініну в крові на 5-у добу розвитку ІС і АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	Стаб. мет. в мкмоль/л	Сум. актив. NOS в хв/мл	L-аргінін в мкмоль/л
Інтактні тварини (контроль)	10	16,8 \pm 2,7	0,65 \pm 0,1	43,25,1
Тварини з ІС та АПМ на 5-у добу (до лікування)	10	30,1 \pm 3,6 $p < 0,05$	1,2 \pm 0,3 $p < 0,05$	27,1 \pm 3,9 $p < 0,05$
Тварини з ІС та АПМ на 5-у добу (після лікування L-аргініну)	10	20,8 \pm 2,8 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,76 \pm 0,1 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	39,8 \pm 4,7 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примітки 1. p – достовірність різниці показників при ІС і АПМ в порівнянні з результатами контрольної групи.

Примітки 2. p_1 – достовірність різниці показників при ІС і АПМ в порівнянні до і після корекції L-аргініном на 5-у добу (% до та після лікування).

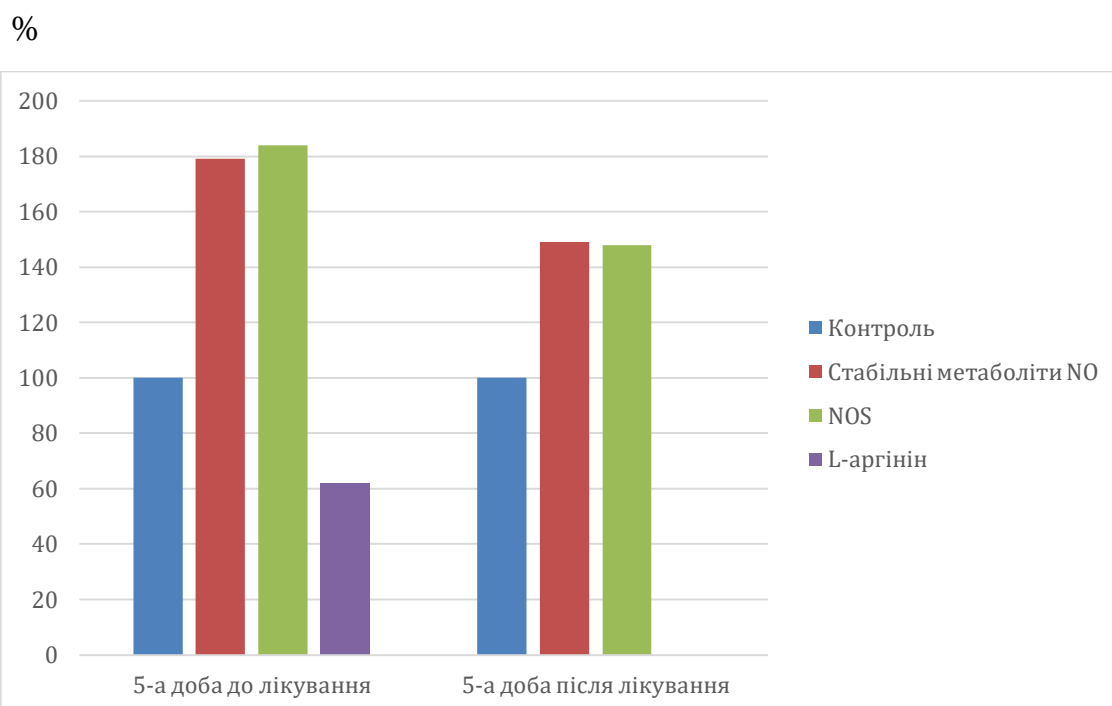


Рисунок 6.7 – Вплив препарату L-аргініну на активність системи NO у крові при адреналіном пошкодженні міокарда та (у% порівняння на 5-у добу до та після лікування).

Застосування L-аргініну у дозі 150 мг/кг маси тіла внутрішньом'язово впродовж 5 днів (з 1-ї по 5-у доби) формування ІС і АПМ призводило до зниження вмісту стабільних метаболітів NO на 30,8% ($p < 0,05$) і сумарної активності NO синтаз на 36,6%, та підвищення вільного L-аргініну в крові на 46,8 % ($p < 0,05$) відносно групи тварин з цими експериментальними моделями хвороби на 5-у добу до лікування, що свідчить про його коригуючий вплив на порушені показники системи NO (табл. 6.7; рис. 6.7).

Використання L-аргініну впродовж 5 днів спричиняло зниження вмісту стабільних метаболітів NO на 21,5 % ($p < 0,05$) і сумарної активності NO синтаз на 35,2%, та зростання рівня L-аргініну на 66,6 % ($p < 0,05$) в міокарді при ІС і АПМ на 5-у добу експерименту в порівнянні з групою тварин до застосування даного лікарського препарату (табл. 6.8; рис. 6.8).

Таблиця 6.8. – Вплив L-аргініну на вміст показників системи NO та L-аргініну в міокарді на 5-у добу розвитку ІС і АПМ (M±m)

Форма досліджу	Кількість тварин	Стаб. мет. в мкмоль/л білка	Сум. актив. NOS в хв/мл білка	L-аргінін в мкмоль/л білка
Інтактні тварини (контроль)	10	0,03±0,002	0,10±0,01	0,05±0,007
Тварини з ІС та АПМ на 5-у добу (до лікування)	10	0,051±0,004 p<0,05	0,17±0,02 p<0,05	0,018±0,003 p<0,05
Тварини з ІС та АПМ на 5-у добу (після лікування L-аргініну)	10	0,040±0,004 p<0,05 p ₁ <0,05	0,11±0,01 p<0,05 p ₁ <0,05	0,03±0,005 p<0,05 p ₁ <0,05

Примітка 1. p – достовірність різниці показників при ІС і АПМ в порівнянні з результатами контрольної групи.

Примітка 2. p₁ – достовірність різниці показників при ІС і АПМ в порівнянні до і після корекції L-аргініном на 5-у добу (% до та після лікування).

%

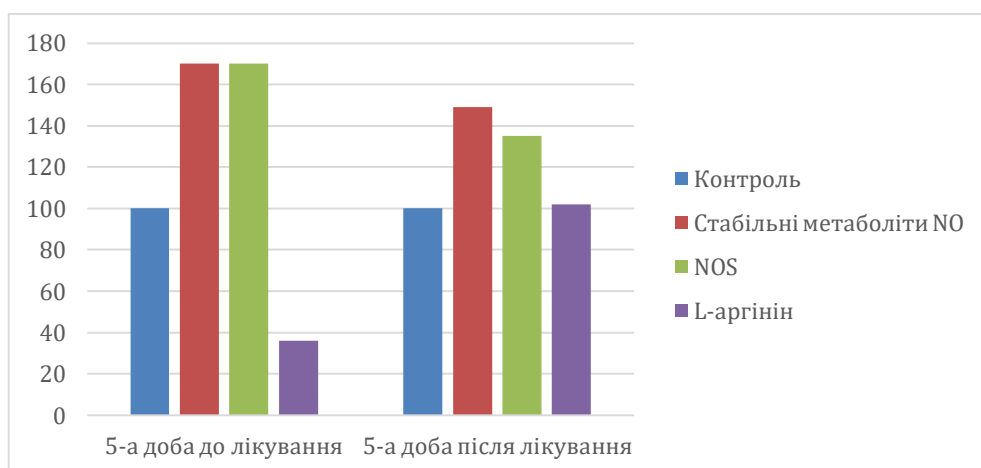


Рисунок 6.8 – Вплив препарату L-аргінін на змінені показники системи NO в міокарді на 5-у добу ІС і АПМ (у% порівняння на 5-у добу до і після лікування).

Отже, одержані нами результати досліджень дозволяють зробити висновок про те, що L-аргінін виявляє позитивну дію на показники порушеної системи NO та рівень вільного L-аргініну в умовах формування ІС та АПМ та доцільність його подальшого вивчення як в експерименті так і в клініці.

Підсумовуючи проведені нами комплексні біохімічні дослідження у тварин з ІС і АПМ було встановлено порушення NO гомеостазу і рівнів L-аргініну в усі періоди їх формування з перевагою на 1-у і 5-у доби експерименту до лікування. Застосування препарату L-аргініну спричиняло коригуючий вплив на дисбаланс показників системи NO та вільного L-аргініну за умов розвитку ІС та АПМ в крові і в міокарді. З огляду на це можна стверджувати, що L-аргінін таким чином впливаючи позитивно на показники системи NO при ІС і АПМ був правильно патогенетично обґрунтований у застосуванні у вигляді терапії.

Таким чином, узагальнюючи результати досліджень, які наведені у шостому розділі дисертації можна зробити такі проміжні висновки:

1. Імобілізаційний стрес на усіх етапах свого перебігу супроводжується зростанням рівня стабільних метаболітів NO і NOS, з перевагою на 1-а добу експерименту на тлі зниження вмісту L-аргініну як в крові так і в міокарді особливо на 3-у, 5-у доби експерименту проти контролю.

2. Адреналінове пошкодження міокарда призводить до ще більшого розбалансування стабільних метаболітів NO та сумарної активності NO синтаз в крові та в міокарді (підвищення їх активності) на усіх етапах його розвитку та зниження рівня L-аргініну особливо на 3-ю і 5-у доби експерименту відносно інтактної групи тварин.

3. Імобілізаційний стрес і адреналінове пошкодження міокарда, які перебігали в поєднанні зумовлювали найвиразніші збільшення показників системи NO на тлі суттєвого пригнічення вільного L-аргініну в усі періоди

їх маніфестації з домінуванням на 1-у і 5-у доби проти контрольної групи тварин до лікування.

4. Застосування препарату L-аргініну викликало коригуючий вплив на порушенні показники системи NO та вільного L-аргініну (знижується вміст стабільних метаболітів NO та сумарна активність NO синтаз та зростає рівень вільного L-аргініну) в умовах поєднаної патології - іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.

Результати досліджень даного розділу дисертаційної роботи відображені у 1 науковій праці [194].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Численні статистичні дані вказують на те, що патологія серцево-судинної системи займає перше місце за розповсюдженістю та летальністю, основною причиною якої є некротичні процеси в міокарді, що виникли як результат метаболічних змін. Серед захворювань ССС найбільшу питому вагу складає ішемічна хвороба серця, гострий інфаркт міокарда [6, 5, 9, 12, 34]. Тому відтворення експериментальної моделі АПМ реально відображає перебіг гострої ішемічної хвороби серця, її і нині широко використовують для тестування та визначення ефективності протекторної дії цілого ряду нових фармакологічних засобів, які б могли зменшити пошкоджуючий ефект та сприяти швидкій реабілітації таких хворих. Невідповідність, яка виникає між потребами міокарда в кисні і його постачанням коронарними судинами, що призводить до гіпоксії міокарда, зниження синтезу енергії та гальмування енергозалежних процесів є причиною розвитку функціонально-метаболічних порушень. Вплив катехоламінів на порушення процесів енергозбереження клітин є однією з головних ланок патогенезу формування хвороб серця. Цей механізм має місце в умовах іншої патології, яку ми моделювали шляхом відтворення у тварин іммобілізаційного стресу, що також супроводжується активізацією і накопиченням великої кількості катехоламінів, особливо у першу стадію стресу. Це очевидно є подвійний, посилений вплив АПМ і ІС через активізацію і синтез в значній кількості катехоламінів, що спричиняє розвиток гіпоксії і запалення. Останні запускають новий каскад порушень процесів ліпопероксидації, ендогенної інтоксикації, імунних змін, а також системи оксиду азоту [3, 6, 42, 43, 44, 47].

Властиві ці процеси порушують функції мембранозв'язуючих ферментів, підвищення проникності мембран з наступною дезорганізацією

роботи клітин та зміни функції серця, порушенням гемодинаміки із пошкодженням судин мікроциркуляторного русла.

Виходячи з наведеного можна стверджувати як і підтверджують ряд експериментальних і клінічних досліджень, що захворювання ССС і нервово-психічні розлади і стреси є дуже розповсюджені, мають соціально-економічне значення через те, що призводять до розвитку різних ускладнень, втрати тимчасової чи довготривалої працездатності, інвалідності і навіть смерті.

Не дивлячись на значні успіхи в кардіології, фармакології та в медицині в цілому ріст серцево-судинної патології і стресів не зменшується. Уже відомі етіологічні чинники формування ІХС, про те механізми її розвитку до кінця не вивчені. Зокрема не з'ясовані особливості змін процесів ліпопероксидації і антиоксидантного захисту, ендогенної інтоксикації, активності трансаміназ, показників системи оксиду азоту в крові і міокарді в динаміці (1-а, 3-я, 5-а доби) розвитку АПМ, який поєднаний з ІС до та після використання L-аргініну. Усе вище зазначене, вказує на гостроту і актуальність наукової роботи і потребує проведення подальших як експериментальних так і клінічних досліджень.

Відповідно до цього метою нашого дослідження було з'ясувати патогенетичні особливості порушень оксидантних і антиоксидантних процесів, системи оксиду азоту, ендогенної інтоксикації і активності трансаміназ в патогенезі розвитку адреналінового пошкодження міокарда і імобілізаційного стресу та встановити ефективність L-аргініну в їх корекції.

Для виконання даної мети поставлено і виконано п'ять завдань дослідження.

Для цього були проведені експериментальні і біохімічні дослідження на 110 білих щурах (самцях), розподілені на п'ять груп: перша – інтактні тварини (10) – контроль; друга (дослідна) група, яка містила три підгрупи

(по 10 тварин), (30) з ІС відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби експерименту (до лікування); третя (дослідна) група, яка містила три підгрупи (по 10 тварин), (30) з АПМ відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби експерименту (до лікування); четверта (дослідна) група, яка мала три підгрупи (по 10 тварин), (30) з поєднаною патологією ІС та АПМ відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби експерименту (до лікування); п'ята (дослідна) група – (10) – білі щурі з ІС та АПМ на 5-у добу експерименту після лікування препаратом L-аргініном, який вводили внутрішньом'язово у дозі 150 мг/кг впродовж 5 днів (з 1-ї по 5-у доби).

Першим етапом нашого дослідження було вивчення одного з молекулярних механізмів пошкодження клітин, що стосувалися особливостей порушень прооксидантної та антиоксидантної систем в крові при поєднаній патології (ІС і АПМ) в динаміці їх розвитку до та після корекції L-аргініном.

Для цього були проведені цілий комплекс біохімічних досліджень вмісту малонового діальдегіду, дієнових кон'югантів та активності каталази, супероксиддисмутази – в крові в динаміці формування іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда окремо та за умов їх поєднаної патології.

Нами були обрані фіксовані доби (1-а, 3-а і 5-а) для здійснення біохімічних досліджень при іммобілізаційному стресі та адреналіновому пошкодженні міокарда та застосовано L-аргінін з 1-ї доби, оскільки в ці періоди відбуваються суттєві порушення показників оксидантної системи і антиоксидантного захисту, які потребували використання корекційного медикаментозного лікарського засобу L-аргініну, що має властивості антиоксиданта та протизапального препарату і ангіопротектора. Крім цього зазначені вище доби відповідають фазам перебігу іммобілізаційного стресу, ішемії і некрозу міокарда.

Сьогодні уже відомо, що стан адаптаційної здатності імунітету залежить від взаємодії прооксидантних та антиоксидантних процесів та процесів ендогенної інтоксикації. Власне вони становлять основу функціонування судинної системи як фактору гомеостазу. Адекватні зміни в цій системі зумовлені порушенням балансу - послабленням антиоксидантів на тлі посилення прооксидантів, високою продукцією молекул середньої маси та зростанню еритроцитарного індексу інтоксикації, і можуть стати причиною розвитку ряду складних патологічних процесів в організмі. У зв'язку з тим з'ясування особливостей механізмів можливих порушень в різних ланках системи гомеостазу, дозволяє чітко відслідковувати перебіг патологічного процесу, ефективність застосованого лікування та передбачити можливий прогноз захворювання [95, 98, 106, 116, 119, 120].

Відомо з літератури, що процеси ПОЛ і стан АОС відіграють важливу роль у розвитку багатьох захворювань. Гіпоксичні, запальні і стресорні процеси посилюють нагромадження продуктів ліпопероксидації з наступним виснаженням антиоксидантної системи та розвитком оксидантного стресу, що негативно впливає на функцію органів та систем організму, ускладнює перебіг різних захворювань [9, 10, 80, 82, 85, 88].

У результаті проведення моделювання іммобілізаційного стресу в щурів-самців лінії Вістар на 1-у і 3-у добу експерименту відбувалося зростання вмісту ДК в крові проти контролю. Пізніше на 5-у добу розвитку ІС спостерігалось у меншій мірі підвищення рівня ДК в крові відносно інтактної групи тварин, що вказувало на інтенсивне нагромадження продуктів ПОЛ в усі періоди ІС з найбільшим вираженням їх в ранній термін.

Визначення кінцевого продукту ПОЛ - МДА показало його зростання в крові як у ранній (1-а і 3-а доби) так і у пізній (5-а доба) періоди розвитку

імобілізаційного стресу в крові, що свідчило про надмірне утворення метаболітів ліпопероксидації.

Таким чином, дослідження показників прооксидантної системи в крові, зокрема вмісту ДК і МДА показало їх різке зростання в усі періоди формування ІС, яке домінувало у ранній період (1-а доба) нашого спостереження. Одержані нами результати досліджень дозволяють стверджувати, що надмірне продукування метаболітів ліпопероксидації має важливе значення для патогенезу розвитку ІС.

Посилена стимуляція ПОЛ зумовлювала суттєві зміни в системі антиоксидантного ферментативного захисту. На ранньому етапі (1-а і 3-а доби) розвитку ІС відбувалося зниження активності СОД в крові відносно контролю, що вказувало на пригнічену здатність АОС утилізувати продукти ліпопероксидації. Також, на 5-у добу формування ІС відбувалися подальші порушення активності цього ензиму. Він був зниженим у крові проти показників першої групи тварин, що свідчило про виснаження механізмів захисту на тлі домінування механізмів пошкодження.

Визначення іншого ферменту – КТ в крові при ІС показало, що цей фермент змінювався за напрямом, аналогічним до активності СОД.

Так на 1-у і 3-у доби імобілізаційного стресу спостерігалось поступове зниження активності КТ в крові в порівнянні з контролем. Пізніше на 5-у доби розвитку ІС відбувалося подальше зниження активності цього ензиму проти інтактної групи тварин.

Таким чином, проводячи аналіз одержаних результатів дослідження показників оксидантної і антиоксидантної систем дозволило констатувати, що на усіх етапах розвитку ІС в крові відбувалася гіперпродукція метаболітів ПОЛ особливо на 1-у добу та зниження активності ферментів (СОД, КТ), що переважали на 5-у добу експерименту, що свідчило про наявність оксидантного стресу, який посилює та поглиблює перебіг імобілізаційного стресу.

У процесі розвитку адреналінового пошкодження міокарда (1-а і 3-а доба) в крові було встановлено зростання вмісту ДК проти контролю. Пізніше на 5-у доби експерименту відбувалося підвищення концентрації ДК відносно інтактної групи тварин, що свідчить про активізацію реакцій вільнорадикального окиснення. Як видно з одержаних даних, що процеси ПОЛ особливо переважали в ранню фазу (1-а доба) формування адреналінового пошкодження міокарда.

Подібний вектор порушень було виявлено під час дослідження іншого продукту ПОЛ – МДА в крові. Рівень МДА в ранній період (1-а і 3-а доби) формування адреналінового пошкодження в тканинах міокарда зростав у крові, а далі на 5-у добу експерименту утримувалося подальше його незначне підвищення в порівнянні з першою групою тварин.

Отже визначення ДК і МДА в крові в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда показало їх різке зростання, яке досягало свого апогею на 1-у добу експерименту і вказувало на надмірну продукцію, як первинних так і вторинних метаболітів ПОЛ, що мають патогенний вплив на перебіг міокардіопатії.

Ця стрімка активізація процесів ліпопероксидації суттєво вплинула на активність ферментів АОС, які зазнавали помітних змін.

З самого початку на 1-у і 3-у доби експерименту відбувалося зниження активності СОД, а далі на 5-у добу формування АПМ спостерігалось ще більше зниження відносно контролю.

З метою більш ширшого вивчення стану ферментативної ланки АОС – було досліджено активність КТ в крові при адреналіновому пошкодженні міокарда.

Встановлено, що АПМ на ранніх етапах (1-а і 3-а доби) свого розвитку супроводжується зниженням активності КТ в крові, і надалі в пізній період (5-а доба) активність цього ензиму найбільше знижувалася проти першої

групи тварин, що свідчило про виснаження механізмів захисту при даній експериментальній моделі хвороб.

Таким чином, дослідження маркерів оксидантної і АОС показало різке зростання вмісту ДК і МДА в крові на усіх етапах розвитку адреналінового пошкодження міокарда з переважанням на 1-у добу експерименту в умовах зниження активності СОД, КТ, що вказувало на розвиток оксидантного стресу уже в ранній період формування адреналінового пошкодження міокарда, що посилювало перебіг міокардіопатії.

Особливістю наукової роботи було з'ясувати роль і значення процесів перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи в крові в динаміці (1-а, 3-а, 5-а доби) формування поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда у щурів до лікування.

З цією метою досліджували вміст ДК і МДА, активність СОД, КТ в крові в процесі розвитку цих поєднаних експериментальних моделей хвороб.

В умовах поєднаної патології (1-а, 3-а, 5-а доби ІС і АПМ) відбувалося суттєве зростання рівня ДК в крові проти контролю, що свідчить про активізацію процесів ПОЛ, яка була впродовж усього періоду з переважанням на 1-у добу експерименту.

Визначення кінцевого продукту ВРО – вмісту МДА в крові дало можливість виявити його підвищення на 1-у, 3-у, 5-у доби розвитку поєднаної патології, що вказувало на стимуляцію ліпопероксидазних процесів з домінуванням в ранній період їх формування.

Отже, вивчення рівня початкових і кінцевих продуктів ПОЛ (ДК і МДА) показало їх різке зростання в крові з максимальним вираженням на 1-у добу розвитку ІС і АПМ, що свідчило про гіперпродукцію метаболітів вільнорадикального окиснення та їх патогенний вплив на зазначені експериментальні моделі хвороб.

Одержані результати досліджень показують, що вони суттєво вплинули на ферментативну активність антиоксидантної системи в умовах ІС і АПМ.

Активність ферментативної ланки антиоксидантної системи в умовах поєднаної патології зазнавала помітних змін і мала депресивний характер та залежала від тривалості дії патогенних чинників.

А саме встановлено, що на ранньому (1-а доба) етапі розвитку ІС та АПМ відбувалося зниження активності СОД відносно контролю. Далі на 3-у добу експерименту спостерігалось подальше зниження активності СОД. Вона знижувалася проти інтактної групи тварин. У пізній період (5-а доба) формування поєднаної патології – ІС і АПМ було виявлено найсуттєвіше зниження активності СОД в крові в порівнянні з першою групою тварин.

Одержані нами дані вказують на неспроможність СОД активно нейтралізувати надмірно утворені продукти ПОЛ в крові протягом 5-ти діб експерименту, що свідчить про виснаження механізмів захисту та посилення механізмів пошкодження при ІС і АПМ.

Дослідження іншого ферменту АОС – каталази в крові показало аналогічний напрям змін як і СОД при АПМ і ІС.

З'ясовано, що на 1-у добу експерименту спостерігалось зниження активності КТ, пізніше на 3-у добу – встановлено її зниження проти контролю. Згодом на 5-у добу розвитку ІС та АПМ відбувалося і надалі зниження активності КТ відносно першої групи тварин, що свідчить про депресії АОС.

Отже, підсумовуючи одержані результати досліджень варто підкреслити, що поєднана патологія – ІС і АПМ зумовлює помітні порушення процесів оксидантної і антиоксидантної систем з розвитком оксидантного стресу уже на ранніх етапах (1-а доба) їх формування з подальшим їх посиленням.

Отримані дані свідчать про участь одного з молекулярних механізмів пошкодження тканин за умов розвитку ішемічних процесів у міокарді та ІС.

Аналізуючи одержані результати досліджень можна констатувати, що в процесі розвитку адреналінового пошкодження міокарда та іммобілізаційного стресу переважають механізми пошкодження над механізмами захисту, які уже виявляються з ранніх етапів формування цих експериментальних моделей хвороб та спостерігаються на усіх (1-а, 3-я, 5-а доби) періодах експерименту.

Загальновідомо, що препарат L-аргінін широко використовується в клінічній практиці лікаря завдяки тому, що він має антиоксидантні, вазодилатуючі, антигіпотекторні, протизапальні та імунокоригуючі властивості [4].

Виходячи з вищенаведеного та враховуючи наші попередньо одержані результати досліджень, які вказували, на те що за умов поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда в крові розвивається починаючи з 1-ї доби експерименту оксидантний стрес, що проявляється гіперпродукцією метаболітів ліпопероксидації на тлі депресії ферментативної ланки антиоксидантного захисту.

Властиво, це стало підґрунтям для застосування антиоксидантів, як середників, що поліпшували порушені процеси оксидантно-антиоксидантної системи при АПМ і ІС.

З цією метою нами був застосований препарат L-аргінін впродовж 5 діб (з 1-ї по 5-у доби), який вводили внутрішньом'язово щоденно у дозі 150 мг і порівнювали результати досліджень тварин з ІС та АПМ до та після його використання на 5-у добу експерименту.

Поєднана патологія (ІС і АПМ) проявляла на 5-у добу (до лікування) підвищенням вмісту ДК і МДА проти контролю.

Застосування L-аргініну призводило до зниження рівня ДК і МДА відносно групи тварин з поєднаною патологією (ІС і АПМ), які не

піддавалися впливу цього лікарського середника, що свідчило про його антиоксидантну дію.

На 5-у добу формування ІС та АПМ до лікування відбувалося зниження активності СОД, КТ в крові в порівнянні з першою групою тварин, що вказувало на виснаження ферментативної ланки АОС.

Використання препарату L-аргініну зумовлювало підвищення активності СОД, КТ в крові проти групи щурів, яким не вводили цей середник, що свідчило про його коригуючий вплив на змінені маркери ПОЛ і АОС за умов розвитку іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.

Отже, проведений нами цілий ряд біохімічних досліджень показників оксидантної і антиоксидантної системи в динаміці розвитку поєднаних патологічних процесів (ІС та АПМ) показало зростання процесів ліпопероксидації на тлі пригнічення ферментативної ланки антиоксидантної системи, які переважали у ранній період їх формування та свідчило про участь одного з молекулярних механізмів пошкодження клітин в патогенезі цих моделей хвороб.

У цьому зв'язку варто підкреслити, що однією з важливих патогенетичних ланок в розвитку і прогресуванні хронічних запальних процесах і захворювань серцево-судинної системи відіграє активація оксидантного стресу з його пошкоджувальною дією на структури і функції тканин та органів. Саме вираженість змін в системі перекисне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист може свідчити про швидкість прогресування патологічного процесу і характер можливих ускладнень, що є важливим для визначення наслідків захворювання, рецидивів та інвалідизації.

З метою патогенетичної терапії застосування нами препарату L-аргініну було встановлено, що він спричиняв антиоксидантний вплив на порушені показники метаболічних процесів за умов розвитку

експериментальних іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.

Цілий ряд науковців, стверджують про важливе значення ендогенної інтоксикації в патогенезі багатьох патологічних процесів організму. Ендогенна інтоксикація – неспецифічний синдром, характерний для багатьох захворювань. Прогноз перебігу різних токсичних станів, багатьох захворювань, які супроводжуються інтоксикаційним синдромом, вибір способу дезінтоксикаційної терапії та інших методів лікування утруднені без об'єктивної оцінки рівня ендогенної інтоксикації (ЕІ). Серед методів діагностики ЕІ найбільш об'єктивним є визначення еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ). Оскільки мембрани дозрілих еритроцитів можна розглядати як модель плазматичних мембран усіх клітин організму, підвищення їх проникності (зростання ЕІІ) свідчить про патологічні процеси, що супроводжуються цитолізom і виходом з цитоплазми органот- та органелоспецифічних ферментів. У доступній нам літературі мало даних про рівень ендогенної інтоксикації при іммобілізаційному стресі у щурів, а при поєднаній патології взагалі відсутні [22, 138, 139, 146].

Молекули середньої маси (МСМ) – вторинні ендогенні токсини пептидної природи. Істотна особливість МСМ полягає в їх чітко вираженій високій біологічній активності. При концентраціях, що перевищують фізіологічні, вони погіршують перебіг основного патологічного процесу, набуваючи ролі вторинних токсинів, негативно впливають на життєдіяльність організму. Нагромадження МСМ у крові викликає гемодинамічні порушення, анемію, сепсис, полісерозити, нервово-психічні порушення. Визначення цих речовин у крові дає змогу оцінити ступінь ендогенної інтоксикації, а також контролювати ефективність детоксикаційних засобів. Гостре адреналінове ушкодження міокарда (АПМ) призводить до активації пероксидного окиснення ліпідів, підвищення вмісту гострофазових протеїнів, пригнічення імунної системи

та підвищення рівня молекул середньої маси. МСМ володіють високою біологічною активністю змінюють тонус судин, проникність клітинних мембран, виявляють прямий вплив на біоелектричну активність серця, провокуючи розвиток ішемічної хвороби серця (нестабільна стенокардія і гострий інфаркт міокарда) [20, 22, 24, 31, 146].

Враховуючи вищенаведене, метою нашого дослідження було з'ясувати роль порушень показників ендогенної інтоксикації в патогенезі розвитку ізольованої ІС та АПМ та в їх поєднанні до та після корекції препаратом L-аргініном.

Відповідно до цього стан ендогенної інтоксикації характеризували за вмістом МСМ₂₅₄ МСМ₂₈₀ та еритроцитарного індексу інтоксикації їх в крові в динаміці (1-а, 3-а, 5-а доби) формування іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда.

Результати біохімічних досліджень показали, що на 1-у добу формування ІС відбувається послідовне зростання вмісту МСМ₂₅₄ та МСМ₂₈₀ в крові, проти контрольної групи тварин. На 3-й день експерименту рівень МСМ₂₅₄ і МСМ₂₈₀ збільшилася, проти інтактної групи тварин. На 5 - й день ІС відмічено збільшення вмісту МСМ₂₅₄ та на МСМ₂₈₀ у порівнянні з першою групою щурів.

Вивчення іншого показника ендогенної інтоксикації, зокрема, ЕП в крові на 1-шу добу експерименту в дослідній групі щурів, показало зростання при ІС щодо інтактної групи. Цей показник на 3-тю добу експерименту підвищився у дослідній групі проти контролю. У найпізніший термін нашого дослідження на 5-ту добу експерименту спостерігалось зростання ЕП порівняно з першою групою щурів.

Таким чином, визначення показників ендогенної інтоксикації у в крові показало їх зростання на усіх етапах формування іммобілізаційного стресу з домінуванням їх на 1-у добу експерименту відносно контролю, що вказує

на посилення процесів інтоксикації при цій експериментальній моделі хвороб.

Наступним завданням дисертаційної роботи було вивчити особливості змін маркерів ендогенної інтоксикації в крові в динаміці (1-а, 3-а і 5-а доби) формування адреналінового пошкодження міокарда.

Стан ЕІ визначали за рівнем MCM_{254} та MCM_{280} і еритроцитарного індексу інтоксикації в крові при адреналіновому пошкодженні міокарда.

Встановлено, що на 1-у добу формування адреналінового пошкодження міокарда відбувалося зростання концентрації MCM_{254} та MCM_{280} в крові проти інтактної групи тварин.

Далі в різні періоди адреналінового пошкодження міокарда спостерігалось підвищення рівня MCM_{254} , MCM_{280} в крові на 3-ю добу і досягнуло найменших процентних показників проте були вищими на 5-ту добу досліджень відносно контролю.

Не менш важливе значення для характеристики стану ендогенної інтоксикації при АПМ має визначення іншого показника, який носить назву еритроцитарний індекс інтоксикації.

Як видно з наших досліджень, що аналогічний вектор змін зазнавав вміст еритроцитарного індексу інтоксикації, як і MCM в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда в крові (1-а, 3-а і 5-а доби). Він – зростав в крові відносно першої групи тварин.

Отже, як показують результати досліджень ЕІ, що цей маркер був підвищеним на усіх етапах формування АПМ з найбільшим ступенем зростання у ранні його періоди (1-а доба) в порівнянні з контрольною групою щурів.

Одержані дані вказують на стимуляцію процесів ендогенної інтоксикації на усіх етапах розвитку адреналінового пошкодження міокарда, які особливо були найбільше виражені на 1-у добу експерименту. Таким чином комплексні біохімічні дослідження маркерів ендогенної

інтоксикації в тварини різних груп (інтактні та з АПМ на 1-у, 3-ю та 5-у добу) довели, що найбільше утворення продуктів ендогенної інтоксикації відбувається на ранніх етапах їх формування, особливо на першу добу експерименту з поступовим зменшення їх на 3-ю і 5-у доби, але вище контрольної групи, що свідчить про важливу роль метаболіті в ендогенної інтоксикації та їх участь в механізмах формування АПМ.

Важливим завданням нашого дослідження було вивчити особливості порушень маркерів ендогенної інтоксикації в крові та їх роль у динаміці розвитку іммобілізаційного стресу в поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарда.

Дослідження вмісту MCM_{254} , MCM_{280} у крові щурів показало їх різке зростання як у 1-у добу експерименту та дещо нижчі показники на 3-ю добу формування ІС та АПМ відносно контролю.

Встановлено, що в найвіддаленіший період розвитку поєднаної патології - ІС та АПМ на 5-у добу в крові зберігалось також підвищення вмісту MCM_{254} , MCM_{280} в крові щурів, в порівнянні з першою групою тварин.

Для всебічної оцінки стану ендогенної інтоксикації було проведено дослідження вмісту еритроцитарного індексу інтоксикації в крові при поєднаній патології.

Нами виявлено помітне підвищення цього маркера в крові в процесі розвитку ІС і АПМ (1-а, 3-а і 5-а доби) проти інтактної групи тварин, що свідчило про активізацію інтоксикаційних процесів, які домінували на 1-у добу експерименту.

Таким чином, підсумовуючи одержані нами результати досліджень можна констатувати, що поєднана патологія ІС та АПМ супроводжувалася стрімкою активацією процесів ендогенної інтоксикації (1-а, 3-тя і 5-а доби), які були більше виражені ніж при окремих процесах ІС та АПМ, проти

контролю, та свідчило про пригнічення активності дезінтоксикаційних систем в організмі тварин.

Літературні джерела вказують на те, що L-аргінін виявляє протизапальну, імунокоригуючу, ендотелійстабілізуючу і антиоксидантну дію [4]. Виходячи з вищевикладеного нами був застосований L-аргінін, як препарат патогенетично обґрунтований для терапії стресорно індукованих та адреналінопошкоджуючих захворювань.

У попередніх підрозділах дисертаційної роботи до лікування було встановлено зростання вмісту маркерів ендогенної інтоксикації в динаміці розвитку ІС та АПМ, які особливо домінували в ранній їх період (1-а доба) формування проти контрольної групи тварин. Це свідчило про перевагу процесів ендогенної інтоксикації, які різко зростали в міру формування патологічних процесів і були потужним пошкоджувальним фактором, що посилював розвиток ІС і АПМ.

Застосування L-аргініну спричиняло зниження вмісту МСМ₂₅₄, МСМ₂₈₀ і ЕП відносно групи тварин з ІС та АПМ в крові без використання цього лікарського середника, що вказувало на його дезінтоксикаційну дію на порушені метаболічні процеси при даних експериментальних моделях хвороби.

Одержані нами результати досліджень дозволяють стверджувати про позитивну, коригувальну дію препарату L-аргініну на змінені показники ендогенної інтоксикації в крові за умов розвитку ІС та АПМ.

Відомо з літератури, що аланінамінотрансфераза (АЛТ) та аспартатамінотрансфераза (АСТ) – найдостовірніші маркери пошкодження клітин та некрозу печінки. АЛТ вважається специфічнішим для захворювань печінки, оскільки ці ферменти переважно знаходяться в її цитозолі. Розрізняють цитозольну та мітохондріальну ізоформи АСТ, які містяться в печінці, серці, скелетних м'язах, нирках, головному мозку, підшлунковій залозі, легенях, лейкоцитах та еритроцитах. Підвищення

рівня АСТ та АЛТ трапляється не тільки за печінкової патології, але під час захворювань серцево-судинної та ендокринної систем. Ще одним етіологічним фактором підвищення рівня трансаміназ є пошкодження м'язів. Надмірне фізичне навантаження або міопатія можуть викликати їх підвищення (особливо АСТ) без іншої симптоматики [27, 30, 35, 54, 201]. На сьогодні, не вивченні є питання, які стосуються змін активності трансаміназ у крові в умовах іммобілізаційного стресу (ІС) та адреналінового пошкодження міокарда (АПМ) і вплив на них препарату L-аргініна.

У цьому контексті слід зазначити, що L-аргінін володіє гепатопротекторними властивостями, призводить до зниження в'язкості зон білково-ліпідного контакту і підвищуючи активність мембранозв'язуючого фермента цитохрома Р-450, який забезпечує детоксикаційну функцію печінки. Встановлений позитивний вплив L-аргініну на прооксидантно-антиоксидантний баланс при ішемії/реперфузії у дорослих кроликів-самців та покращує функцію серця у пацієнтів з серцевою недостатністю. Ефективність L-аргініну в клінічній гепатології не викликає сумнівів [4].

Результати наших досліджень показали, що за умов іммобілізаційного стресу до лікування активність у крові показників АЛТ та АСТ збільшувалася впродовж 5-ти діб експерименту. А саме, активність АЛТ зросла, порівняно з контрольною групою на 1-шу добу експерименту. Далі на 3-ю добу іммобілізаційного стресу, встановили, що активність цього ензиму у крові підвищилась, і в найпізніший термін на 5-у добу експерименту активність АЛТ, дещо знизилася, але залишалася вищою порівняно з першою групою тварин. Ці зміни активності АЛТ.

Визначення іншого ферменту з групи трансаміназ – АСТ в крові показало, що він зазнав аналогічних змін, як і активність АЛТ при ІС.

У процесі розвитку ІС (1-а доба) відбувалося різке зростання активності в сироватці крові цього ферменту, пізніше на 3-ю добу експерименту активність АСТ зросла проти контролю. Цей показник досягнув зростаючої активності на 5-у добу експерименту в порівнянні з даними інтактної групи тварин.

Отже, визначення активності АЛТ та АСТ в динаміці формування ІС (1-а, 3-а і 5-а доби) показало, що тривалість дії стресорного фактору помітно впливає на рівень у крові цих ферментів. Найбільш виражене їх підвищення було пов'язано з ранній періодом розвитку іммобілізаційного стресу.

Це дозволяє зробити висновок, що активність трансаміназ дещо відрізнялася від контрольної групи щурів, в умовах іммобілізаційного стресу перманентно зростають протягом всього періоду спостереження з перевагою на першу і третю доби експерименту. Це зумовлено збільшенням проникності клітинних мембран гепатоцитів та пошкодженням мітохондріальних мембран і надходженням внутрішньоклітинних ензимів у кров'яне русло за умов формування ІС [16, 17].

Відомо, що трансамінази служать важливими маркерами пошкодження клітин. Тому ми їх досліджували в динаміці формування адреналінового пошкодження міокарда [].

Нами встановлено, що рівень АЛТ носив одновекторний характер, який різко зростав на усіх етапах розвитку АПМ (1-а, 3-я і 5-а доби) відповідно підвищувався відносно контролю, що дає підстави стверджувати про активізацію пошкоджуючих факторів на мембрани клітин і виходом ферментів у кров.

Не менш суттєву роль для визначення пошкоджуючого впливу на гепатоцити відіграє АСТ. Нами виявило підвищення її рівня відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби маніфестації адреналінового пошкодження міокарда відносно першої групи тварин.

Отже, одержані нами результати досліджень активності АЛТ та АСТ вказують на їх різке підвищення в крові в залежності від термінів спостереження і досягали максимальної активності АЛТ на 3-у добу експерименту та АСТ на 1-у добу розвитку АПМ.

Важливим завданням даного дослідження було вивчити особливості порушень трансаміназ в крові у динаміці (1-а, 3-а і 5-а доби) формування поєднаної патології – іммобілізаційного стресу і адреналінового пошкодження міокарда (до лікування), що дозволяють охарактеризувати стан клітинних мембран у динаміці цих експериментальних моделей хвороб.

Результати наших біохімічних досліджень показали, що за умов поєднаної патології (ІС та АПМ) відбуваються суттєві зміни активності трансаміназ у всі періоди їх розвитку. Зокрема, активність АЛТ підвищився проти контролю на 1-ту добу експерименту. У дослідних групах на 3-у та 5-ту доби експерименту, яким моделювали ІС та АПМ. Зазначений ензим зріс в крові, проти інтактної групи тварин.

Інший показник трансаміназ – АСТ в крові на 1-шу добу ІС та АПМ відносно інтактної групи. Пізніше на 3-ю добу експерименту цей показник підвищився проти контрольної групи. У найпізніший термін нашого спостереження (5-а доба) відбувалося зростання цього ферменту, проте в меншому ступені вираження порівняно з контрольною групою.

Таким чином, здійснений ряд біохімічних досліджень у щурів показав певні закономірності щодо активності трансаміназ в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда. А саме виявлено підвищення активності АЛТ та АСТ починаючи з 1-ї доби експерименту під час формування поєднаної патології (ІС та АПМ), було встановлено пошкодження мембран клітин і залежало від стресогенного навантаження (ІС) в умовах адреналінового пошкодження міокарда.

Одержані нами результати досліджень є яскравим свідченням участі і ролі трансаміназ в механізмі формування ІС та АПМ і служать важливою основою для обґрунтування патогенетичної терапії.

Попередні дослідження активності трансаміназ в крові на 5-у добу поєднаної патології (ІС і АПМ) до лікування показало підвищення АЛТ і АСТ проти контролю, що вказують на пошкодження мембранних структур клітин та виходом цих ферментів з клітин в кров.

Застосування L-аргініну у дозі 150 мг/кг маси тіла внутрішньом'язово впродовж 5 днів (з 1-ї по 5-у доби) формування ІС і АПМ призводило до зниження активності АЛТ і АСТ відносно групи тварин з цими експериментальними моделями хвороби на 5-у добу до лікування, що свідчить про його коригуючий вплив на порушені показники трансаміназ.

Підсумовуючи проведені нами комплексні біохімічні дослідження у тварин з ІС і АПМ встановлено порушення трансаміназ в усі періоди їх формування з особливими їх змінами на 1-у і 3-у доби експерименту до лікування. Застосування препарату L-аргініну спричиняло мембранокоригуючий вплив на показники трансаміназ в крові за умов розвитку поєднаної патології.

З огляду на це можна стверджувати, що L-аргінін таким чином впливаючи позитивно на показники трансаміназ зменшує адреналінове пошкодження та стрес на клітини міокарда, попереджуючи розвиток різноманітних ускладнень та покращує перебіг і прогноз хвороби.

Літературні джерела свідчать про те, що система стресу - це регуляторна система, яка представлена трьома складовими: нервовою, ендокринною та імунною, дія якої спрямована на підтримання гомеостазу. Механізми стресу в органах серцево-судинної системи пов'язані з посиленням вироблення гормонів стресу наднирковими залозами, головним чином катехоламінами, які, впливаючи на α -адренорецептори, призводять до звуження судин, порушення кровопостачання тканин та індукують розвиток

нітрозоксидативних процесів. Катехоламіни, що виділяються у відповідь на активацію симпато-надниркової системи, разом з вегетативною нервовою системою мають регуляторний вплив на серцево-судинну та імунну системи, легені, печінку та скелетні м'язи [30, 35].

У фізіологічних умовах в ендотеліюцитах кровоносних судин NO синтезується у низьких концентраціях за допомогою конститутивної NOS, потім дифундує у гладку мускулатуру судин, де реагує з розчинним гуанілатциклазним гемом (sGC), що призводить до утворення вторинного месенджера - циклічного гуанозинмонофосфату (sGMP)). Відомо, що останній діє через протеїнкіназу G і призводить до розслаблення гладком'язових клітин та розширення судин та збільшення припливу крові до органів. Оксид азоту (NO) - важлива внутрішньоклітинна та міжклітинна сигнальна молекула, яка бере участь у регуляції різних фізіологічних та патофізіологічних процесів у серцево -судинній, нервовій, імунній та травній системах. Обмін аргініну залежить від активності середовищ ферментів оксиду азоту синтатази та аргінази. Синтетаза оксиду азоту оксидує аргінін до цитруліну та NO, а аргіназа гідролізує аргінін до орнітину та сечовини. Виходячи з вищенаведеного, дослідження нами показників системи NO має важливе значення для вивчення механізмів формування ІС і АПМ [1, 20, 21, 22, 23].

Для вивчення стану системи оксиду азоту в крові і міокарді при ІС проводили біохімічні дослідження щодо вмісту стабільних метаболітів, сумарної активності NOS і L-аргініну.

Було встановлено зростання активності стабільних метаболітів NO в крові відповідно на 1-у, 3-у і 5-у доби ІС проти контролю. Аналогічно зростала сумарна активність NO синтаз в крові на 1-у, 3-у і 5-у доби експерименту відносно першої групи тварин, що свідчило про стимуляцію активності показників NO системи в умовах іммобілізаційного стресу. Рівень ендогенного L-аргініну в крові щурів, протягом 1-ої доби

експерименту незначно зростав, а далі на 3-ю і 5-у доби навпаки зменшувався порівняно з інтактною групою тварин.

Визначення показників системи NO в міокарді в динаміці розвитку ІС показало однонаправлений вектор змін – зростання стабільних метаболітів NOS на тлі зниження рівня L-аргініну. Результати досліджень показали, що активність стабільних метаболітів NO на 1-у добу ІС зросла в міокарді відносно інтактної групи. Пізніше на 3-ю добу експерименту активність цих метаболітів підвищилася проти контрольної групи. Далі на 5-у добу експерименту в групі тварин спостерігали зростання стабільних метаболітів порівняно з першою групою тварин. Дослідження сумарної активності NO синтаз показала зростання її, на 1-у добу експерименту відносно інтактної групи. Пізніше на 3-ю та 5-у доби експерименту активність NO синтаз відповідно підвищувалася проти першої групи тварин. Рівень L-аргініну в міокарді щурів, протягом 1-ї доби експерименту зріс, а далі на 3-ю і 5-у доби навпаки спостерігалось зменшення порівняно з контрольною групою щурів.

Отже, одержані нами результати біохімічних досліджень вказують на те, що ІС супроводжується порушеннями метаболічних процесів, які проявляються на усіх етапах експерименту – зростанням концентрації стабільних метаболітів NO і активності NOS на тлі зниження вмісту L-аргініну в крові і в міокарді.

Також висвітлюються активність показників системи NO та L-аргініну в крові і міокарді за умов розвитку експериментального адреналінового пошкодження міокарда. Для цього були проведені дослідження вмісту стабільних метаболітів NO, сумарної активності NO синтаз, рівня ендогенного L-аргініну у крові щурів-самців лінії Вістар в динаміці (1-а, 3-а і 5-а доби) формування цієї експериментальної моделі хвороби.

Біохімічні дослідження були розпочаті із визначення активності стабільних метаболітів NO у крові в ранні (1-а і 3-а доби) етапи, АПМ активність яких була вищою порівняно з контрольною групою. На 5-у добу

розвитку експериментального адреналінового пошкодження міокарда, вміст стабільних метаболітів був вище від інтактної групи тварин.

В подальшому дослідженні була визначена сумарна активність NO синтаз, в крові рівень яких впродовж експерименту (1-а, 3-я і 5-а доби) була вище від контрольної групи.

Концентрація L-аргініну в крові щурів, протягом 1-ї доби АПМ зросла в крові, а пізніше на 3-ю і 5-у доби експерименту навпаки зменшився порівняно з контрольною групою тварин.

Важливе значення для розуміння особливостей порушень показників системи NO при АПМ має їх визначення не лише в крові, але в міокарді. Вміст стабільних метаболітів NO на 1-у добу АПМ в міокарді зросла відносно контрольної групи. На 3-ю добу експерименту концентрація цих метаболітів NO підвищилася проти інтактної групи тварин. На 5-у добу експерименту спостерігали зростання стабільних метаболітів NO порівняно з першою групою тварин. Визначення сумарної активності NO синтаз на 1-у добу АПМ показало, що вона зросла, відносно інтактної групи. Далі на 3-ю та 5-у доби експерименту активність NO синтаз була підвищеною відповідно проти контрольної групи. Рівень L-аргініну в міокарді щурів, протягом 1-ї доби експерименту зріс, а пізніше на 3-ю і 5-у доби навпаки зменшився порівняно з контрольною групою.

Таким чином, одержані нами результати досліджень активності показників системи NO при адреналіновому пошкодженні міокарда вказують на їх підвищення як в крові та і в міокарді на усіх етапах їх розвитку з перевагою у ранні періоди (1-а доба) на тлі зниження концентрації L-аргініну на 3-ю та 5-у доби дослідження відносно контрольної групи, що свідчить про використання резервів цієї амінокислоти на утворення ферментів системи оксиду азоту при тривалому адреналіновому пошкодженні міокарда.

Важливу роль у вивченні функції ендотелію відіграє визначення хімічної природи ендотеліального фактору релаксації за допомогою дослідження — оксида азота (NO). При цьому було встановлено, що більшість вазорегуляторних речовин діє на судинну стінку за допомогою універсального механізму — синтезу ендотелієм NO, який утворюється шляхом дії ферменту ендотеліальної NO-синтетази із L- аргініна. Він активує в гладком'язових клітинах гуанілатциклазу, яка стимулює синтез циклічного гуанозинмонофосфата (цГМФ). цГМФ обумовлює розслаблення судин, гальмування активності тромбоцитів і макрофагів.

Наступні наші дослідження показників системи NO були проведені в міокарді при ІС та АПМ.

Встановлено, що на 1-у і 3-ю доби адреналінового пошкодження міокарда в умовах іммобілізаційного стресу вміст стабільних метаболітів NO підвищувався у міокарді відповідно контролю. Згодом, на 5-у добу ІС та АПМ зберігалось зростання вмісту метаболітів NO у міокарді вище інтактної груп тварин, що свідчило про пошкодження міокардіоцитів.

Вивчення сумарної активності синтаз оксиду азоту (NOS) показало зростання їх у міокарді, на 1-у, 3-ю і 5-у доби, за умов поєднаного впливу АПМ в умовах ІС впродовж зазначеного періоду експерименту, проти інтактної групи тварин.

Визначення концентрації L-аргініну в міокарді при адреналіновому пошкодженні міокарду в умовах іммобілізаційного стресу на 1-у, 3-ю та 5-у доби експерименту показало його зниження до лікування порівняно з першою групою тварин.

Отже, результати дослідження активності показників системи NO у тварин в динаміці розвитку поєднаної патології — ІС та АПМ на 1-у, 3-ю, 5-у доби, показали, що на усіх етапах їх формування відбувається різке надмірне зростання вмісту стабільних метаболітів NO та сумарної активності NO синтаз, на тлі суттєвого зниження рівня L-аргініну в крові і

міокарді, що може вказувати на посилення ушкодження ендотелію судин та ішемії міокарда, яке має важливе значення для їх патогенезу.

Попередні дослідження показників системи NO в крові на 5-у добу поєднаної патології (ІС і АПМ) до лікування показало підвищення рівня стабільних метаболітів NO і сумарної активності NO синтаз та зниження концентрації вільного L-аргініну проти контролю, що вказують на пригнічення захистних факторів клітин в умовах надмірного викиду в кров продуктів метаболізму NO.

Застосування L-аргініну у дозі 150 мг/кг маси тіла внутрішньом'язово впродовж 5 днів (з 1-ї по 5-у доби) формування ІС і АПМ призводило до зниження вмісту стабільних метаболітів NO і сумарної активності NO синтаз та підвищення вільного L-аргініну в крові відносно групи тварин з цими експериментальними моделями хвороби на 5-у добу до лікування, що свідчить про його коригуючий вплив на порушені показники системи NO.

Використання L-аргініну впродовж 5 днів спричиняло зниження вмісту стабільних метаболітів NO і сумарної активності NO синтаз, та зростання рівня L-аргініну в міокарді при ІС і АПМ на 5-у добу експерименту в порівнянні з групою тварин до застосування даного лікарського препарату.

Отже, одержані нами результати досліджень дозволяють зробити висновок про те, що L-аргінін виявляє позитивну дію на показники порушеної системи NO та рівень вільного L-аргініну в умовах формування ІС та АПМ та доцільність його подальшого вивчення як в експерименті так і в клініці.

Підсумовуючи проведені нами комплексні біохімічні дослідження у тварин з ІС і АПМ було встановлено порушення NO гомеостазу і рівнів L-аргініну в усі періоди їх формування з перевагою на 1-у і 5-у доби експерименту до лікування. Застосування препарату L-аргініну спричиняло коригуючий вплив на дисбаланс показників системи NO та вільного L-аргініну за умов розвитку ІС та АПМ в крові і в міокарді. З огляду на це

можна стверджувати, що L-аргінін таким чином впливаючи позитивно на показники системи NO при ІС і АПМ був правильно патогенетично обґрунтований у застосуванні у вигляді терапії.

Отже, проведені нами комплексні біохімічні дослідження показників – ДК, МДА, СОД, КТ, АСТ, АЛТ, МСМ, ЕП, стабільних метаболітів NO і NOS і L- аргініну в крові і в міокарді при АПМ окремо та за умов розвитку ІС дали можливість охарактеризувати особливості порушень процесів ліпопероксидації і антиоксидантного захисту, активності трансаміназ, ендогенної інтоксикації, системи оксиду азоту в крові і міокарді до та після застосування L-аргініну.

Одержаний фактичний матеріал дисертаційної роботи дозволяє розширити і поглибити існуючі уявлення про патогенез, удосконалити діагностику та лікування АПМ і ІС.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання, яке полягає у з'ясуванні патогенетичних особливостей формування адреналінового пошкодження міокарда та іммобілізаційного стресу щодо порушень процесів ліпопероксидації і антиоксидантного захисту, ступеня ендогенної інтоксикації, активності трансаміназ, показників системи оксиду азоту в крові і міокарді. Експериментально обґрунтовано можливість їх корекції за допомогою L-аргініну.

1. У патогенезі формування адреналінового пошкодження міокарда та іммобілізаційного стресу провідну роль відіграє оксидантний стрес, який спостерігається на усіх етапах їх розвитку з перевагою на 1-у добу експерименту, що проявляється гіперпродукцією метаболітів ліпопероксидації – підвищенням вмісту дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду відповідно на 212,7% ($P<0,05$) і 119,5% ($P<0,05$) на тлі депресії антиоксидантної системи – зниженням активності супероксиддисмутази на 26,21% ($P<0,05$) і каталази в крові на 17,2% ($P<0,05$) проти групи інтактних тварин.

2. Маніфестація адреналінового пошкодження міокарда та іммобілізаційного стресу (1-а, 3-я, 5-а доби) супроводжується помітним зростанням вмісту молекул середньої маси $_{254}$ в крові відповідно на 192,1% ($P<0,05$), 147,3% ($P<0,05$), 126,3% ($P<0,05$), молекул середньої маси $_{280}$ відповідно на 219,3% ($P<0,05$), 183,8% ($P<0,05$), 154,8% ($P<0,05$) та еритроцитарного індексу інтоксикації відповідно на 131,6% ($P<0,05$), 105,6% ($P<0,05$), 100,0% ($P<0,05$) відносно контролю, що свідчило про інтенсивне наростання ступеня ендогенної інтоксикації, яке домінувало на 1-у добу експерименту.

3. Адреналінова міокардіопатія поєднана з іммобілізаційним стресом на усіх етапах свого розвитку (1-а, 3-я, 5-а доби) викликає стабільне підвищення активності трансаміназ в крові з перевагою на 1-у добу експерименту, а саме зростання активності аланінамінотрансферази і аспартатамінотрансферази відповідно на 290,0% ($P<0,05$), і 118,7% ($P<0,05$) в порівнянні з першою групою тварин.

4. Розвиток адреналінового пошкодження міокарда та іммобілізаційного стресу зумовлює дисбаланс в метаболізмі оксиду азоту на різних періодах їх формування з домінуванням на 1-у добу експерименту – зростанням вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту і сумарної активності синтаз оксиду азоту відповідно на 95,8% ($P<0,05$), 130,8% ($P<0,05$) на тлі зниження рівня L-аргініну в крові на 32,6% ($P<0,05$) проти контрольної групи тварин.

5. Динаміку (1-а, 3-я, 5-а доби) розвитку адреналінового пошкодження міокарда та іммобілізаційного стресу характеризує надмірна гіперпродукція стабільних метаболітів оксиду азоту в міокарді відповідно на 96,6% ($P<0,05$), 80,0% ($P<0,05$), 70,0% ($P<0,05$), підвищення сумарної активності синтаз оксиду азоту відповідно на 90,0% ($P<0,05$), 80,0% ($P<0,05$), 70,0% ($P<0,05$) в умовах зниження вмісту L-аргініну в міокарді відповідно на 40,0% ($P<0,05$), 60,0% ($P<0,05$), 64,0% ($P<0,05$) відносно інтактної групи тварин, що вказує на важливу роль порушень показників системи оксиду азоту в патогенезі цих експериментальних моделей хвороб.

6. Застосування L-аргініну призводило до коригуючого впливу його на порушені маркери метаболічних процесів (знижується рівень малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, активність трансаміназ, концентрація молекул середньої маси, еритроцитарного індексу інтоксикації, стабільних метаболітів оксиду азоту, сумарна активність синтаз оксиду азоту та зростає вміст L-аргініну в крові і в міокарді) за умов

розвитку адреналінового пошкодження міокарда та іммобілізаційного стресу.

Рекомендації щодо наукового і практичного використання здобутих результатів

Результати проведених біохімічних досліджень дозволяють:

1. Впровадити на кафедрах патологічної фізіології та клінічних профільних кафедр (кардіології, терапії, неврології, психіатрії) медичних вишів дані дослідження, які дозволяють розширити і поглибити знання відносно патогенезу формування адреналінового пошкодження міокарда та іммобілізаційного стресу.

2. Пропонувати для раннього виявлення ускладнень та прогнозу розвитку адреналінового пошкодження міокарда та іммобілізаційного стресу визначати біохімічні показники в крові продукти ендогенної інтоксикації – MCM₂₅₄, MCM₂₈₀, ЕП, ДК, МДА, СОД, КТ, трансамінази, стабільні метаболіти NO і сумарну активність NOS, L-аргініну.

3. Пропонувати можливо патогенетично обґрунтовану терапію з антиоксидантною, дезінтоксикаційною і коригуючою дією порушених метаболічних процесів за допомогою використання L-аргініну хворим на ІХС і стресі з проявами оксидантного стресу, ендогенної інтоксикації, дисбалансом показників системи оксиду азоту.

4. Виражена антиоксидантна і дезінтоксикаційна дія L-аргініну, що встановлена результатами наших досліджень дає можливість його використовувати в клінічній практиці лікаря як лікарський засіб для комплексної терапії ІХС і стресу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Адейшвили-Сыромятникова М. К., Абрамова Л. П., Мясоєдов В. В. Метаболизм оксида азота при повреждении тканей. *Експерим. і клін. мед.* 2012. № 1. С. 36-38.
2. Атаман О.В. Патофізіологія: в 2ох частинах. Т 1. Загальна патологія. Вінниця: *Нова книга*. 2012. С 592.
3. Барабой В.А., Резніков О.Г. Фізіологія, біохімія і психологія стресу. Київ: *Інтерсервіс*. 2013. С.314.
4. Барна О.М., Сірик В.О., Гдиря О.В. L-аргінін: нові можливості до застосування. *Ліки України*. №3 (2019) 2018. С.25-28.
5. Башкірова Л.О. Сучасні підходи до медикаментозного лікування хворих із вегето-судинними пароксизмами. *Мистецтво лікування*. 2005. №11. С. 34–39.
6. Беялов Ф.И. Депрессия, тревога и стресс у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Тер. Архив*. 2017. № 8. С. 104-109.
7. Бойченко О. М. Поширеність захворюваності на пародонтит у пацієнтів з ІХС, які страждають стабільною стенокардією напруги. *Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2011. Т. 11, № 4 (36). С. 4–7.
8. Бородач В. О. Активність каталази в міокарді морських свинок за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарду. *Бюлетень Х читань ім. В.В. Підвисоцького*, 26-27 травня 2011 року. Одеса. 2011. С. 33-34.
9. Бородач В. О. Зміни активності каталази в легенях морських свинок за умов розвитку пневмонії на тлі адреналінового пошкодження міокарда до та після застосування корвітину. *Креативні напрямки в діагностиці, патогенезі та лікуванні внутрішніх хвороб*: зб. тез наук.-практ. конф., 12–13 травня 2011 р. Запоріжжя, 2011. С. 4.

10. Бородач В. О. Зрушення функціонального стану про- і антиоксидантної систем у міокарді, що виникли при пневмонії на тлі адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція корвітином. *Медична гідрологія та реабілітація*. 2010. Т. 8, № 3. С. 24–27.

11. Бородач В. О. Особливості змін функціонального стану процесів перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи у легенях морських свинок при експериментальній пневмонії на тлі адреналінового пошкодження міокарда та корекція їх порушень корвітином. *Загальна патологія та патологічна фізіологія*. 2010. Т. 5, № 3. С. 29–33.

12. Бугаєнко В.В. Гендерні особливості діагностики, лікування та лікування ішемічної хвороби серця. *Український кардіологічний журнал*. 2015. №6. С. 100-12.

13. Визир В.А. Гепатопротекция при ишемической болезни сердца. *Сучасна гастроентерологія*. 2006. №3. С.66-67.

14. Висоцька В.Г. Динаміка циркадіанних перебудов фібринолітичної активності сечі та плазми крові білих щурів при поєднанні стресу та солей важких металів. *Актуальні питання клінічної та експериментальної медицини*: 86-а підсумк. конф. наук. Бук. держ. мед. ун-ту, 2005 р.: тези доп. Чернівці: Бук. держ. мед. ун-т. 2005. С.98-103

15. Вознесенская Т.Г. Эмоциональный стресс и профилактика его последствий. *Русский медицинский журнал*. 2006. Т 14, №9. С. 694-697.

16. Вплив кристалічного нанокремнію залежно від дози та можливості його використання у ранньому періоді розвитку дифузного кардіосклерозу. Г.С. Сатурська, Н.Я. Потіха, С.М. Чарнош, М.І. Богун. *Вестник. Наука и практика*. Лодзь, 2013. Ч. 1. С. 94-95.

17. Вплив триметазидину на нервово-медіаторні порушення у регуляції серця тварин з експериментальним дифузним кардіосклерозом за різної чутливості їх до гіпоксії. Г.С. Сатурська, Ю.І. Бондаренко, С.М. Чарнош та ін. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*:

матеріали підсумк. наук.-практ. конф., присвяченої пам'яті ректора чл.-кор. НАМН України, професора Л.Я. Ковальчука (Тернопіль, 17 черв. 2015 р.) Тернопіль : ТДМУ, 2015. С. 221.

18. Гарська Н.О. Роль нейтрофілів у механізмах взаємодії імунних і гемостатичних реакцій при іммобілізаційному стресі. *Одеський медичний журнал*. 2000. №3(59). С 19-23.

19. Генік С.М., Генік С.І. Роль стресу в розвитку захворювань. *Галицький лікарський вісник*. 2007. № 4. С. 104–106.

20. Гоженко А.И., Катюжинская С.П., Реутов В.П. Роль оксида азота в физиологии и патологии системы гомеостаза. Одесса. 2005. С. 139.

21. Гоженко А.І., Гришко Ю.М. Функціонально-метаболічний континуум: *Фізіологія і патологія*. Полтава, 2020. С. 200.

22. Гоженко А.І., Ференц Н.М. Розвиток ендогенної інтоксикації в організмі морських свинок при експериментальній пневмонії в умовах іммобілізаційного стресу та корекція корвітином. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2015. № 2 (40). С. 115 – 119.

23. Голиков П. П., Голиков А. П. Роль оксида азота в патології. *Арх. патол.* 2005. № 4. С. 24-32.

24. Головченко Ю. И., Трещинская М. А. Обзор современных представлений об эндотелиальной дисфункции. *Consilium Medicum Ukraina*. 2008. № 11. С. 38-40.

25. Горбась І.М. Ішемічна хвороба серця: епідеміологія та статистика. *Кардіологія. Ревматологія. Кардіохірургія*. 2015. № 3(1).
Доступно: <http://health-ua.com/article/15840-shemchna-hvoroba-sertcya-epdemologiya--statistika>.

26. Горизонтов П. Д., Белоусова О. И., Федотов М. И. Стресс и система крови. М.: *Медицина*. 1983. С. 338.

27. Городецький О. Т. Активність аланінамінотрансферази в крові при експериментальному пародонтиті. *Забезпечення здоров'я нації та*

здоров'я особистості як пріоритетна функція держави: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 17-18 січня 2020 р. Одеса. 2020. С. 27-29.

28. Городецький О. Т. Активність каталази в тканинах пародонта в динаміці формування експериментального пародонтиту та адреналінового пошкодження міокарда. *Охорона та захист здоров'я людини в умовах сьогодення*: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 1-2 листопада 2019 р. Київ. 2019. С. 12-13.

29. Городецький О. Т. Особливості змін активності супероксиддисмутази в міокарді в динаміці формування експериментального пародонтиту. *Медичні науки: історія розвитку, сучасний стан та перспективи досліджень*: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 27-28 вересня 2019 р. Львів. 2019. С. 85-86.

30. Городецький О. Т. Особливості порушень активності аспартатамінотрансферази в крові в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда. *Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки*: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 21-22 лютого 2020 р. Львів. 2020. С. 96-98.

31. Городецький О. Т. Рівень цитокінів у крові в динаміці розвитку пародонтиту та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція корвітином *Медична наука та практика: виклики і сьогодення*: збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції, 21-22 серпня 2020 р. Львів. 2020. С. 70-72.

32. Городецький О. Т., Регеда М. С. Вміст продуктів ліпопероксидації та активність ензимів антиоксидантної системи в міокарді у динаміці формування експериментального пародонтиту. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21. № 2 (79). С. 44-48.

33. Городецький О. Т., Регеда М. С. Значення процесів ліпопероксидації та активності антиоксидантної системи в міокарді за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда при експериментальному пародонтиті та корекція їх порушень корвітином. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2019. № 2 (38). С. 93-98.

34. Городецький О. Т., Регеда М. С. Роль процесів пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи в міокарді в патогенезі формування адреналінового ушкодження міокарда. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21. № 1 (78). С. 38-42.

35. Городецький О.Т. Активність трансаміназ у міокарді та сироватці крові при експериментальному пародонтиті та адреналіновому ушкодженні міокарда. *Клінічна стоматологія*. 2020. №1. С. 71-77.

36. Гуревич В.С. Конторщikov К.Н., Шатилина Л.В. Сравнительный анализ двух методов определения активности СОД. *Лаб. дело*. 1990. №4. С. 44-47.

37. Гулага О. І., Ташук В. К., Полянська О. С. Процеси ліпопероксидації у хворих на серцеву недостатність. *Буковинський медичний вісник*. 2010. Т. 14. № 2. С. 122-124.

38. Демкович А.Є. Активні форми кисню в механізмах розвитку і перебігу запальних процесів одонтогенного походження. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*, 2012. № 1 (16). С. 51-55.

39. Дмитренко Н. П., Кишко Т. О., Шандренко Г. С. Аргинин: биологическое действие, влияние на синтез оксида азота. *Укр. хіміотерапевт. ж.* 2008. № 1-2 (22). С. 137-140.

40. Дяченко Ю., Онофрейчук Д. І., Соколов М.Ю. Синдром no-reflow як наслідок пізньої госпіталізації для проведення перкутанної реперфузії міокарда. *Український кардіологічний журнал*. 2016. №5. С. 55-63.

41. Елькова Н. Л., Зубкова А. А., Зубков В. В. Оценка состояния тканей пародонта у пациентов с нестабильной стенокардией. *Человек и здоровье*. 2013. № 1. С. 57–61.
42. Ефективність патогенетичної корекції експериментального дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу. Г.С. Сатурська, Ю.І. Бондаренко, О.В. Денефіль та ін. *Медицина хімія*. 2014. Т. 16. № 4 (61). С. 98.
43. Загородна П.С., Громович А.В., Одинець М.О. Кардіопротекція завдяки біологічним ефектам L-аргініну місце комбінованих препаратів. *Ліки України*. №7 (193) 2015. С. 36-40.
44. Зубачик В. М., Яричківська Н. В. Роль оксиду азоту в гомеостазі тканин пародонта (огляд літератури). *Буковинський медичний вісник*. 2016. Том 20, № 2 (78). С. 194-198.
45. Калматов Р. К., Жолдошев С. Т. Роль механизмов свободнорадикального окисления в патогенезе локального поражения верхних дыхательных путей. *Молодой учёный*. 2015. № 10 (90). С. 417-422.
46. Кардіологія сімейного лікаря: навчальний посібник. В. М. Ждан [та ін.]. Полтава, 2006. 257 с.
47. Кипшидзе Н.Н., Зубиашвили Т.Г. Новые подходы к лечению геронтологических больных ишемической болезнью сердца с синдромом стенокардии. *Буковинський медичний вісник*. 2009. Т. 13. № 4. С. 126-129.
48. Клінічна імунологія та алергологія (посібник для проведення практичних занять). В. Чоп'як та ін. Львів: *Видавець Тетюк Т. В.* 2015. 207 с.
49. Коваленко В. Н., Лутай М. И., Митченко Е. И. Стресс и сердечно-сосудистые заболевания. *Здоров'я України*. 2015. № 8 (357). С. 38-39.
50. Коваленко В.М., Корнацький В.М. Стан здоров'я народу України та медичної допомоги третинному рівню. Київ: *ДУ НДІ Інститут кардіології імені акад. М. Д. Стражеско*; 2019. 223 с.

51. Коваленко В.М., Сіренко Ю.М., Радченко Г.Д. Стрес та виникнення артеріальної гіпертензії: що відомо. *Артериальная гипертензия*. 2014. №4 (36). С. 9-20.

52. Ковальзон В.М. Стресс, сон и нейuropeптиды. *Природа*. 1999. №5. С. 37–41.

53. Козлова А. Н. Структурно-функциональная характеристика респираторных отделов легких при воздействии стрессорных факторов и окситоцина. *Морфологические ведомости*. 2012. № 3. С. 34–40.

54. Костіна О.О. Гудима А.А., Дацко Т. В. Метаболічні й структурні порушення міокарда в умовах експериментального гострого ураження легень. *Вісник наукових досліджень*. 2017. № 3. С. 128—132.

55. Костіна О.О. Особливості змін показників антиоксидантного захисту в гомогенаті серця у щурів у динаміці гострого ураження легень. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2013. № 2. С. 254—255.

56. Костіна О.О. Патогенетичні особливості функціональних і метаболічних порушень серця в динаміці гострого ураження легень. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017. Т. XVI. № 3, Ч. 2. С. 54.

57. Коновчук В.М., Максимчук Н.О., Максимчук О.А. Клінічна та експериментальна патологія. 2016. №4, (58). С.143-146.

58. Кузнецова А.С., Гоженко А.И., Кузнецова Е.С. “Эндотемий: физиология и патология. Монография. *Одесса «Феникс»*. 2018. С. 284.

59. Левицький В.А., Лучко І.М. Деякі аспекти порушення мікроциркуляції в серцевому м’язі щурів при емоційно-больовому стресі. *Буковинський медичний вісник*. 2002. Т 6. №2-3. С 135-137.

60. Левицький П.Р., Гнатюк М.С. Вплив фотостимуляції на функціонально-біохімічні прояви адреналінової міокардіодистрофії. *Медична хімія*. 2005. Т. 7. № 3. С. 54-57.

61. Лепавко А.А., Хара М.Р. Морфометричний аналіз структурного пошкодження міокарда в щурів різного віку і статі при дії токсичної дози адреналіну. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2009. №1. С.21-23.

62. Лебедева Т.А. Вплив глутаргіну та триметазидину на прояви гострого гіпоксичного ушкодження міокарда, спричиненого адреналіном. *Вісник наукових досліджень*. 2007. № 4. С. 74-77.

63. Лис О. Б., Регеда М. С., Грушка О.І. Особливості порушень процесів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові у динаміці розвитку іммобілізаційного стресу при адреналіновому ушкодженні міокарда. *Вісник наукових досліджень*. 2018. № 3. С. 134–137.

64. Лис О.Б. Активність трансаміназ в крові при адреналіновому пошкодженні міокарда. *Перспективні напрямки розвитку сучасних медичних та фармацевтичних наук: збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції 12-13 лютого 2021, Дніпро*. 2021. С. 10-11.

65. Лис О.Б. Особливості змін активності трансаміназ у крові в умовах розвитку іммобілізаційного стресу. *Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 4–5 грудня 2020 р. Київ*. 2020. С.12 -13.

66. Лис О.Б. Стан ендогенної інтоксикації в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарду. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2019. № 2(86). С. 46–50.

67. Лис О.Б., Грушка О.І. Особливості змін активності трансаміназ у крові в динаміці поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2020. №3/4(91). С. 26-30.

68. Лис О.Б., Регеда М.С. Ступінь ендогенної інтоксикації в динаміці розвитку поєднаної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарду. *Вісник наукових досліджень*. 2019 № 1. С. 131-134.

69. Лисенко Г.І., Ященко О.Б., Маяцька О.В. Кардіоваскулярні розлади у практиці сімейного лікаря. *Мистецтво лікування*. 2005. С. 71–75.

70. Малахов В.О, Монастирський В.О. Современные идеи про иммунно-нейроендокриной системы в норми и при патологии. *Книга специалиста*. 2010. №11(12). С. 331–332.

71. Маммаєв С. М., Заглиева С. С., Заглиев С. Г. Влияние инфекционных факторов на активацию провоспалительных цитокинов при хронической сердечной недостаточности. *Иммунология*. 2009. № 10. С. 37–39.

72. Мамчур В. Й., Слесарчук В. Ю. Захисна дія препаратів кверцетину за умов моделювання іммобілізаційного стресу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2008. №1-3. С. 38-43.

73. Маркова О.О. Міокардіодистрофія і реактивність організму. Тернопіль: *Укрмедкнига*. 1998. 152 с.

74. Медведь В. И. Долгожданный донатор оксида азота. *Здоровье Украины*. 2009. № 13–14. С. 62.

75. Меерсон Ф. З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М.: *Медицина*. 1988. 256 с.

76. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М.: *Медицина*. 1984. 270 с.

77. Метод определения активности каталазы. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. *Лабораторное дело*. 1988. №1. С. 16-19.

78. Мисула І. Р., Суховолець І. О. Перебіг пародонтиту при гіпоергічному та гіперергічному типах запальної реакції на фоні адреналінової міокардіопатії. *Медична та клінічна хімія*. 2013. Т. 15. № 3. С. 27-30.

79. Мисула І. Р., Цвинтарна І. Я. Зміни імунологічних показників у крові тварин при пародонтиті за різних типів запальної реакції. *Буковинський медичний вісник*. 2012. Том 16. № 3 (63), ч. 1. С. 56-59.

80. Мисула І.Р., Бойків А.Б. Морфологічні зміни серцевого м'язу щурів при гіпоергічному та гіперергічному перебігу адреналінової міокардіопатії в експериментів. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*. 2008. №1. С.47-51.

81. Михайловська Н.С., Кулинич Т.О. Медико-соціальна експертиза при експертиза при захворюваннях внутрішніх органів. Запоріжжя. 2017. 166 с.

82. Мороз А. В. Проблема коморбидности у больных остеоартрозом. *Крымский терапевтический журнал*. 2013. № 2. С. 149-156.

83. Мошковська Ю.О. Використання коректорів метаболізму—сучасний підхід комбінованої терапії хворих на ішемічну хворобу серця. *Ліки України*. 2013. № 1. С. 66-69.

84. Небелюк Н.М. Визначення рівня дієнових кон'югатів у легеневій тканині за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми у поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарду. *Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії*: зб. матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 27-28 жовтня 2017 р. Львів. 2017. С. 37-39.

85. Небелюк Н.М. Визначення рівня малонового діальдегіду в легеневій тканині за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми у поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарду. *Рівень ефективності та необхідність впливу медичної науки на розвиток медичної практики*: зб. матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 2-3 березня 2018 р. Київ. 2018. С. 82-84 .

86. Небелюк Н.М. Зміни рівня Т-лімфоцитів за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми у поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарду. *Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні*: зб. матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 9-10 червня 2017 р. Дніпро. 2017. С. 51-53.

87. Нестерук С.І. Активність супероксиддисмутази в легенях при експериментальній пневмонії в іммобілізаційного стресу. *Актуальні питання сучасної медицини*, 19-20 квітня 2012 р.: тези конф. Харків. 2012. С. 111.

88. Нестерук С.І. Значення факторів неспецифічного захисту організму на пізніх етапах розвитку пневмонії в умовах стресу та корекція їх порушень тіотриазоліном. *Медична гідрологія та реабілітація*. 2012. Т. 10, №1. С.40-41.

89. Нестерук С.І. Рівень каталази в крові мурчаків при експериментальній пневмонії в умовах іммобілізаційного стресу. *Проблеми екології та медицини*. 2012. Т.17. №1-2. С. 30.

90. Огоновський Р. З. Функціональний стан прооксидантної і антиоксидантної систем дермальних тканин експериментальних тварин в динаміці розвитку гострої адреналінової міокардіодистрофії. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2010. № 2. С. 17–24.

91. Особливості змін фагоцитарної активності лейкоцитів в крові за умов формування поєднаної патології експериментального пародонтиту та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекції корвітином. О. Т. Городецький, М. С. Регеда, Т. М. Городецький та інші. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2020. № 1 (59). С. 160-166.

92. Особливості місцевого імунітету ротової порожнини у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень у поєднанні з генералізованим пародонтитом. М. І. Гуменюк та ін. *Астма та алергія*. 2014. № 2. С. 31–37.

93. Палій І.Г., Заїка С.В., Вихристюк Г.О. Стрес як фактор виникнення розповсюджених терапевтичних захворювань та шляхи їх оптимальної корекції. *Ліки України*. 2009. №7. С. 65-70.

94. Паньків В. І., Хуторська Л. А. Ризик загальної і серцево-судинної смертності, основних серцево-судинних подій у хворих на цукровий діабет

2-го типу залежно від вибору терапії після встановлення діагнозу. *Буковинський медичний вісник*. 2013. Т.17. № 1. С. 80-85.

95. Пархоменко А. Н. Жизнеспособный миокард и кардиоцитопротекция: возможности метаболической терапии при острой и хронической формах ишемической болезни сердца. *Укр. мед. Часопис*. 2001. №3 (29). С. 5–11.

96. Пархоменко О. М., Кожухов С. Н., Іркін О. І. Нові можливості фармакологічного впливу на прогноз у хворих на інфаркт міокарда з елевацією сегмента ST та гострою серцевою недостатністю. Корвітин для ін'єкцій. *Укр. мед. часопис*. 2004. № 2. С. 33–37.

97. Пиндус В. Б. Корируючий вплив тіотриазоліну на порушені показники клітинного та гуморального імунітету при експериментальному алергічному альвеоліті в умовах адреналінового пошкодження міокарда. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2016. № 3 (27). С. 60-61.

98. Пиндус В. Б. Особливості змін показників прооксидантної системи у легенях в умовах розвитку експериментального алергічного альвеоліту на тлі адреналіновго пошкодження міокарда та їх корекція тіотриазоліном. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2014. № 2 (21). С. 258.

99. Пиндус В. Б., Кресюн В. Й., Регеда М. С. Зрушення функціонального стану прооксидантно-антиоксидантних систем в легенях при експериментальному алергічному альвеоліті та адреналіновому пошкодженні міокарда та корекція їх тіотриазоліном. *Одеський медичний журнал*. 2015. № 3 (149). С. 5-7.

100. Пиндус В.Б. Дія препарату тіотриазоліну на фагоцитарну активність лейкоцитів у крові тварин з експериментальним алергічним альвеолітом за умов адреналінового пошкодження міокарда. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18. № 2 (67). С. 35-37.

101. Пікас О. Б., Петренко В. І. Роль оксиду азоту і його метаболітів в організмі людини та у розвитку патологічних процесів. *Львівський медичний часопис*. 2006. Т.12, № 3/4. С.114-117.

102. Поліщук О., Дацюк Т., Сатурська Г. Патогенетичні особливості проявів серцевої недостатності в умовах розвитку експериментального дифузного кардіосклерозу. *Матеріали XVIII Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених* (Тернопіль, 28-30 квіт. 2014 р.). Тернопіль, 2014. С. 215.

103. Поліщук О., Сатурська Г. Прояви серцевої недостатності у патогенезі експериментального дифузного кардіосклерозу. *Матеріали XVI Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених* (Тернопіль, 23-25 квіт. 2012 р.). Тернопіль, 2012. С. 202.

104. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований. Ленинград : Изд. Ленинградского университета, 1982. 272 с.

105. Пшенникова М. Г. Эмоциональный стресс и его роль в патологии. *Патол. физиол. и эксп. тер.* 2000. № 4. С. 21–31.

106. Регеда М. С., Небелюк Н.М. Вплив корвітину на порушені показники перокисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в легенях при експериментальній бронхіальній астмі у поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарду. *Досягнення біології та медицини*. 2016 №1 (27). С. 27-30.

107. Регеда М. С., Небелюк Н.М. Значення вільнорадикального окиснення і антиоксидантного захисту для патогенезу розвитку експериментальної бронхіальної астми та адреналінового пошкодження міокарду. *Одеський медичний журнал*. 2016 №4 (156). С. 5-8.

108. Регеда М. С., Небелюк Н.М. Значення вільнорадикального окиснення і антиоксидантного захисту для патогенезу розвитку експериментальної бронхіальної астми та адреналінового пошкодження міокарду. *Медична та клінічна хімія*. 2016 №2 (67) том.18. С. 59-62.

109. Регеда М. С., Небелюк Н.М. Роль процесів перекисного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту в міокарді у патогенезі експериментальної бронхіальної астми. *Вісник наукових досліджень*. 2016 №2 (83). С. 85-86.

110. Регеда М.С., Любінець Л.А., Небелюк Н.М. Зміни рівня циркулюючих імунних комплексів за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми в поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарду. *Медицина наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів*: зб. матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 21-22 квітня 2017 р. Львів. 2017. С. 35-38.

111. Регеда М.С., Любінець Л.А., Небелюк Н.М. Роль процесів перекисного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту в легенях у патогенезі експериментальної бронхіальної астми. *Медицинський форум*. 2017 № 12 (12). С. 51-53.

112. Регеда М.С., Регеда-Фурдичко М.М., Регеда С.М. Запалення: механізми пошкодження та захисту. *Монографія*. Львів. 2021. С. 177.

113. Регеда М.С., Регеда-Фурдичко М.М., Фурдичко Л.О. Пневмонія. *Монографія*. Львів. 2021. С. 228.

114. Роль оксидативного стресу в патогенезі атеросклерозу та ішемічної хвороби серця. Гаврилюк С.О., Чекман І.С., Горчакова Н.О. та ін. *Укр. біохім. журн.* 2005. Т.77, №2. С. 16–23.

115. Роль процесів перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту в легенях у пізньому періоді розвитку експериментальної пневмонії та корекція їх порушень тіотриазоліном. В. Й. Кресюн, М. М. Регеда-Фурдичко, С. М. Регеда, Л. О. Фурдичко. *Одеський медичний журнал*. 2016. № 1 (153). С. 26–29.

116. Рудик Ю. С., Чернишов В.А. Стрес як фактор ризику серцево-судинних захворювань: нові можливості фармакотерапії в корекції

психосоматичних розладів. *Раціональна фармакотерапія*. 2019. № 1-2 (50-51). С. 21–23.

117. Сатурская А.С. Особенности кардиопротекторного эффекта триметазидина при экспериментальном кардиосклерозе у крыс с различной степенью чувствительности к гипоксии. *Вестник Витебского ГМУ*. 2015. Т. 14. № 1. С. 34-40.

118. Сатурская А.С., Бондаренко Ю.И., Пелых В.Е. Изменения цитокинового профиля крови при экспериментальном диффузном кардиосклерозе у крыс с различной устойчивостью к гипоксии. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015. Vol. 5. № 2. Р. 66-78.

119. Сатурська Г.С. Застосування ендогенної кардіопротекції для корекції порушень гуморального імунітету при експериментальному дифузному кардіосклерозі у щурів з різною резистентністю до гіпоксії. *Медична та клінічна хімія*. 2015. Т. 17. № 2. С. 63-68.

120. Сатурська Г.С. Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів у тканині міокарда щурів із різною індивідуальною стійкістю до гіпоксії при розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу. *Здобутки клін. та експерим. мед.* 2014. № 2 (21). С. 159-163.

121. Сатурська Г.С. Особливості змін цитокинового профілю крові при застосуванні триметазидину для корекції експериментального дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу у щурів з різною стійкістю до гіпоксії. *Здобутки клін. та експерим. мед.* 2015. № 1 (22). С. 106-111.

122. Сатурська Г.С. Роль системи оксиду азоту у механізмах ініціації кардіосклеротичного процесу залежно від індивідуальної резистентності тварин до гіпоксії та при корекції триметазидином. *Вісник наукових досліджень*. 2014. № 4 (77). С. 115-118.

123. Сатурська Г.С., Бондаренко Ю.І. Особливості метаболізму сполучної тканини при експериментальному дифузному ішемічно-

некротичному кардіосклерозі у щурів із різною стійкістю до гіпоксії. *Вісник Вінницького НМУ*. 2014. Т. 18. № 2. С. 425-429.

124. Сатурська Г.С., Бондаренко Ю.І. Особливості метаболізму сполучної тканини при експериментальному дифузному ішемічно-некротичному кардіосклерозі у щурів із різною стійкістю до гіпоксії. *Вісник Вінницького НМУ*. 2014. Т. 18. № 2. С. 425-429.

125. Сатурська Г.С., Бондаренко Ю.І. Роль вродженої стійкості до гіпоксії у патогенезі метаболічних порушень сполучної тканини при експериментальному дифузному ішемічно-некротичному кардіосклерозі. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*: зб. матеріалів підсумкової наук.-практ. конф. (Тернопіль, 21 травня 2014 р.). Тернопіль, 2014. С. 134.

126. Сатурська Г.С., Бондаренко Ю.І., Усинський Р.С. Порушення нервово-медіаторних процесів та вегетативного балансу у регуляції серця щурів з різною стійкістю до гіпоксії на етапах розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу. *Вісник проблем біології і медицини*. 2015. Т. 1 (122). № 3. С. 192-196.

127. Селье Г. Стресс без дистресса. М.: *Медицина*. 1974. 52 с.

128. Сепиашвили Р. И., Шубич М. Г., Карп'юк В. Б. Оксид азота при астме и различных формах иммунопатологии. *Астма*. 2001. Т 2. № 2. С. 5-14.

129. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А.А. Тогобаев, А.В. Кургузкин, И.В. Рикун и др. *Лаб. дело*. 1988. № 9. С. 22-24.

130. Справочник по клинико биохимической лабораторной диагностике. В двух томах. Под ред. Камышникова В.С. «Беларусь». Минск. 2 том. 2000. С. 205-206.

131. Средние молекулы как вероятные регуляторы системы эритрона у спортсменов – лыжников. И.А. Волчегорский, Д.А. Дятлов, Е.И. Львовская и др. *Физиология человека*. 1996. № 3. С.136-137.

132. Судаков К.В. Системные механизмы эмоционального стресса. М.: Медицина. 1981. С. 174-183.

133. Сусла О. Б. Вікові зміни метаболізму в серцевому м'язі щурів у динаміці розвитку адреналінової міокардіодистрофії. *Мед. хімія*. 2004. № 1. С. 41–47.

134. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.М. Метод повышения интенсивности СРО липидо – содержащих компонентов крови и его диагностическое значение. *Лабораторное дело*. 1981. №4 С. 209-211.

135. Ткач Є. І., Сторожук В.П. Загальна теорія статистики. Київ «Центр учбової літератури». 2009. 440 С.

136. Ференц Н.М. Вплив препарату корвітину на активність трансаміназ в крові і печінці при експериментальній пневмонії в умовах іммобілізаційного стресу. *Вісник Вищої медичної освіти*. Науково-практичний журнал. 2015. №6. С. 72-75.

137. Ференц Н.М. Особливості активності трансаміназ у крові та печінці при експериментальній пневмонії в умовах іммобілізаційного стресу та вплив на них корвітину. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*. 2016. №1 (25). С. 82–84.

138. Ференц Н.М. Рівень еритроцитарного індекса інтоксикації в крові за умов формування експериментальної пневмонії. *Бюллетень XII чтений им.В.В.Подвысоцкого*, 19 – 20 июня 2014р.: матеріали бюлетня – Одеса. 2014. С. 320.

139. Ференц Н.М., Юревич В.Р. Роль процесів перекисного окислення ліпідів і системи антиоксидантного захисту в печінці у патогенезі експериментальної пневмонії та іммобілізаційного стресу і корекція їх порушень корвітином. *Медична хімія*. 2015. Т.17. № 4(62). С.100 – 103.

140. Хара М.Р., Сатурська Г.С., Юрїїв К.Є. Вплив адреналіну на активність системи оксиду азоту в серця щурів різної статі. *Бюлетень X читань ім. В.В. Підвисоцького*. Одеса. 2011. С. 83-84.

141. Цвях О.О. Чеботар Л.Д. Оксидативний стрес у тканинах шлунка щурів при моделюванні гастропатій на тлі нестачі та надлишку мелатоніну. *Буковинський медичний вісник*. 2016. Том 20. № 3(79). С. 190-196.

142. Цитокины и оксид азота при бронхиальной астме. Ф.И. Петровский и др. *Бюллетень сибирской медицины*. 2002. № 1. С. 70-74.

143. Чекаліна Н. І. Гендерний аналіз показників хронічного системного запалення у хворих на ішемічну хворобу серця. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. № 3 (157). С. 161–165.

144. Щепанський Б. Ф. Зміни перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в тканинах пародонту при хронічному пародонтиті. *Матеріали XXII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених*. м. Тернопіль. 23-25 квітня 2018. С. 84-85.

145. Щепанський Б. Ф. Роль перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в легенях в динаміці розвитку хронічного пародонтиту. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні підходи до профілактики, діагностики та лікування захворювань тканин пародонта і слизової оболонки порожнини рота»*. м. Тернопіль. 19-21 квітня 2018. С. 88-90.

146. Щепанський Б. Ф. Стан ендогенної інтоксикації за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2018. Т.17. № 1 (63). С. 113-116.

147. Щепанський Б. Ф. Стан прооксидантно-антиоксидантної системи в тканинах пародонта за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2018. № 2. С. 218-221.

148. Яковенко Л.В., Рябишкина В.М. *Квантовая теория стресса*. *Биол*. 2012. №32. С.14-20.

149. Active forms of oxygen as agents for electrochemical functionalization Komarova NS, Krivenko AG, Ryabenko AG, Naumkin AV. *SWCNTs. Carbon*; 2013. Vol. 53. P. 188-196.
150. Aleinikova T.L, Rubtsova H.V, Pavlova N.A. Guide to Practical Classes in Biochemistry. Moscow: *Medsina*. 2000. 128 p.
151. Anxiety and adverse coronary artery disease outcomes in Chinese patients. Wang G., Cui J., Wang Y. et al. *Psychosom. Med.* 2013. Vol. 75. №6. P. 530-536.
152. Anxiety and new onset of cardiovascular disease: critical review and meta-analysis. Batelaan N. M., Seldenrijk A., Bot M. et al. *Br. J. Psych.* 2016. Vol.208. №3. P. 223-231.
153. Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11119 cases and 13648 controls from 52 countries (the INTERHECT study): case-control study. A. Rosengren, S.Hawken, S. Ounpuu [et al.]. *Lancet*. 2004. Vol. 364. № 9438. P. 953 – 962.
154. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. T. Kawai, T. Matsuyama, Y. Hosokawa et al. *American Journal of Pathology*. 2006. Vol. 169. № 3. P. 987–998.
155. Bayeva M., Ardehali H. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage to sarcomeric proteins. *Curr. Hypertens. Rep.* 2010. Vol.12. P.426–432.
156. Böger R.H. The pharmacodynamics of L-arginine. *J. Nutr.* 2007. Vol. 137. P. 1650–1655.
157. Böger R.H. The pharmacodynamics of L-arginine. *J. Nutr.* 2007. Vol. 137. P. 1650–1655.
158. Bryan N.S., Bian K., Murad F. Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development. *Frontiers in Bioscience*. 2009. Vol. 14. P. 1–18.

159. Chatterjee A., Catravas J. D. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascul. Pharmacol.* 2008. Vol. 49 (4–6). P. 134–140.
160. Chouchani E.T., Pell V.R., Gaude E. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. *Nature*. 2014. Vol. 515. P. 431–435.
161. Coletta C, Erdelyi K, Olah G. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of Angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012; Vol.109 (23). P. 9161–9166.
162. Current concepts of severe asthma. A. Ray, M. Raundhal, T. B. Oriss, P. Ray, S. E. Wenzel. *Clin Invest*. 2016. № 126 (7). P. 2394–2403.
163. Demkovych A. Effects of flavonol quercetin on activity of lipid peroxide oxidation in experimental bacterial-immune periodontitis. *Interventional Medicine and Applied Science*. 2019. Vol. 11. №1. P. 55–59.
164. Dogne S., Flamion B., Caron N. Endothelial Glycocalyx as a Shield Against Diabetic Vascular Complications: Involvement of Hyaluronan and Hyaluronidases. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2018. Vol. 38(7). P. 1427–1439.
165. Donn R., Alourft Z. Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene: positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis. *Arthr. And Rheum*. 2002. Vol. 46. P. 2402–2409.
166. Effect of oral L-arginine supplementation on blood pressure: a meta-analysis of randomized, double-blind, placebo-controlled trials. Dong J.Y., Qin L.Q., Zhang Z. et al. *Am. Heart J*. 2011. Vol. 162. Issue 6. P. 959–965.
167. El-Zammar O.A., Katzenstein A.-L.A. Pathological diagnosis of granulomatous lung disease: a review. *Histopathology*. 2007. Vol. 50. P. 289–310.

168. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. *Council of Europe, Strasbourg*. 1986. 53 p .

169. Ewig S. Chronic obstructive pulmonary disease. National clinical guideline on management of chronic obstructive pulmonary disease in adults in primary and secondary care. *Thorax*. 2004. Vol. 59. P. 190-232.

170. Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol et al. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2007. Vol. 39 (1). P. 44–84.

171. Heart failure: preventing disease and death worldwide. P. Ponikowski, S.D. Anker, K.F. AlHabib, M.R. Cowie [et al.]. *ESC Hear. Fail.* 2014. Vol.1. P.14-25.

172. Holguin F. Oxidative stress in airway diseases. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2013. № 10. P. 150-157.

173. Horodetskyi Oleh. The role of prooxidative and antioxidant processes in periodontal tissue in the mechanisms of formation of adrenalin damage of myocardium and experimental periodontitis and their correction with Corvitin. *Journal of Education, health and sport*. 2019. Vol. 9 No 11. P. 269-276.

174. Is the serum L-arginine level during early pregnancy a predictor of pregnancy-induced hypertension? Jingwen Wang, Tomomi Kotani, Hiroyuki Tsuda et al. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2015. Vol. 57 (1). P. 74–81.

175. Karanth J. Jeevaratnam K. Oxidative stress and antioxidant status in rat blood, muscle: effect of dietary lipid, carnitine and exercise. *Bit. J Vitam. Nutr. Res.* 2005. Vol. 75. No. 5. P. 333–339.

176. Kawakami T., Kashiwakura J. I., Kawakami Y. Histamine-Releasing Factor and Immunoglobulins in Asthma and Allergy. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2014. № 6 (1). P. 6-12.

177. Khasky A. D., Smith J. C. Stress, relaxation states, and creativity. *Percept. Mot. Skills*. 2000. Vol. 88 (22). P. 409–416.

178. Kuznetsova H.S., Kuznetsova K.S., Byts T.M., Mechanims of regeneration of the endothelium at diabetes melitus. 2018. Vol. 23(4). P. 384-390.
179. L-Arginine and Alzheimer's disease. Yi J., Horky L.L., Friedlich A.L. et al. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2009. Vol. 3. P. 211–238.
180. Leoetal C.H. Vascular actions of relaxin: nitric oxide and beyond. *British journal of pharmacology.* 2017. Vol. 174 (10). P. 1002–1014.
181. Levy B.H, Tasker J.G. Synaptic regulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal Axis and its modulation by glucocorticoids and stress. *Frontiers in cellular neuroscience.* 2012. Vol. 6. P. 1–13.
182. Lundberg J.O, Gladwin M.T., Weitzberg E. Strategies to increase nitricoxide Signalling in cardiovascular disease. *Nature reviews Drug discovery.* 2015. Vol. 14 (9). P. 623–641.
183. Lys O. Content of diene konugatives and malonic dialdehyde in blood for rats in dynamics of formation of immobilizational stress. *Conference "Technology transfer: innovative solutions in medicine"* 30.10.2018. Tallinn. Estonia, 2018. C.18-20.
184. Lys O. Molecules of the middle mass in immobilizational stress development dynamics. «Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку та корекції патологічних станів»: матеріали міжвузівської науково-практичної конференції молодих учених та студентів з міжнародною участю 5-6 квітня 2019 року. Харків. 2019. С.17.
185. Lys O., Regeda M. Endogenic intoxication in blood under conditions of combination pathology – immobilizational stress and adrenaline myocardial damage and correction of L-Arginin. *Journal of Education, Health and Sport.* 2019. Vol. 9(3). P. 218-224.
186. Martínez-Ruiz A, Cadenas S, Lamas S. Nitricoxide signaling: classical, less classical and nonclassical mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine.* 2011. Vol.51 (1). P. 17–29.

187. Meta-analysis of anxiety as a risk factor of cardiovascular disease. Emdin C. A., Oduyayo A., Wong C. X. et al. *Am. J. Cardiol.* 2016. Vol. 118. № 4. P. 511-519.

188. Michel T., Feron O. Nitric oxide synthases: which, where, how, and why? *J Clin Invest.* 1997. № 100 (9). P. 2146-2152.

189. Molecular characterization of redox mechanisms in allergic asthma. L. Jiang [et al.]. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2014. V. 113. № 2. P. 137-142.

190. Nebelyuk Nazariy. Effect of corvitin on changes in cytokin levels in the development of experimental bronchial asthma in combination with adrenaline miocardial damage. *Journal of Education, Health and Sport.* 2021. Vol. 11. № 2. P. 308–316.

191. Nicolaides N, Kyratzi E, Lamprokostopoulou A, Chrousos G.P, Charmandari E. Stress, the stress system and the role of glucocorticoids. *Neuroimmuno modulation.* 2015. Vol. 22 (1–2). P. 6–19.

192. Olin J. T., Wechsler M. E. Asthma: pathogenesis and novel drugs for treatment. *BMJ.* 2014. № 24. P. 349-355.

193. Ormazabal V., Nair S., Elfeky O. Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease. *Cardiovascular Diabetol.* 2018. Aug 31. № 17 (1). P. 18-23.

194. Peculiarities of disorders of nitrogen oxide system in the blood at adrenalin-induced myocardial injury in conditions of immobilization stress and their correction by l-arginine. Лис О.Б., Рєгєда М.С., Семенців Н. Г., Рєгєда-Фурдичко М.М, Рєгєда С.М. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science».* 2021. Vol. №4 (32). P. 24-28.

195. Radu-Valentin Coltuc, Victor Stoica. Metabolic Syndrome – Cardiovascular and Metabolic, Complex, Difficult to Quantify Risk Factor. *Modern Medicine.* 2016. Vol. 23 (1). P. 54-59.

196. Rajapakse N.W., Nanayakkara S., Kaye D.M. Pathogenesis and treatment of the cardiorenal syndrome: Implications of L-arginine-nitric oxide

pathway impairment/ Pharmacol. Ther. 2015 May 16. Nitric Oxide Dysregulation in Patients With Heart Failure: The Association of Depressive Symptoms With L-Arginine, Asymmetric Dimethylarginine, Symmetric Dimethylarginine, and Isoprostane. Mommersteeg, Paula M.C., Schoemaker, Regien G. et al. Psychosomatic Medicine. 2015. Vol. 77, Issue 3. P. 292–302.

197. Regeda M. The value of the leukocytes phagocytic activity in the blood for the pathogenesis of the experimental allergic alveolitis in conditions of the adrenalin myocardial injury and correction of their violations by Tiotriazolini. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015. Vol. 5. № 3. P. 289-293.

198. Regeda M.M., Regeda M.S. The role of disturbances of lipid peroxydations and antioxidant systems in pathogenesis development experimental pneumonia and its correction with corvitini. *Journal of Health Sciences*, Poland. 2013. Vol. 3. No 10. P. 185-203.

199. Regeda-Furdychko M. M. The level of endogenic intoxication in the dynamics of development of experimental contact dermatitis and experimental pneumonia and their correction by thiotriazoline. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 11. P. 287–292.

200. Regeda-Furdychko M. M. The role of lipid peroxidation and antioxidant protection in skin in the development of experimental contact dermatitis. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10. № 12. P. 56–64.

201. Reitman S., Frankel S. A. Colorimetric method for the determination of glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol*. 1957. P. 28-56.

202. Renoprotective effect of the antioxidant curcumin: Trujilloa J, Chirinob YI, Molina-Jijón E, Andérica-Romeroa AC, Tapiad E, PedrazaChaverría J. *Recent findings*. 2013. Vol. 1(1). P. 448-456.

203. Rozansky A. Psychosocial risk factors and cardiovascular disease: epidemiology, screening, and treatment considerations. *Cardiovasc. Innov. Applications*. 2016. Vol. 1. № 4. P. 417-431.

204. Sahin E., Gumuslu E. Immobilization stress in rat tissues: Alterations in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2007. Vol. 144. No. 4. P. 342–347.

205. Schmidt H, Hofmann H, Schindler U. NO from NO synthase USA: *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996. Vol. 93. P. 14492–14497.

206. Seddon M., Looi Y.H., Shah A.M. Oxidative stress and redox signalling in cardiac hypertrophy and heart failure. *Heart*. 2007. Vol. 93. P.903–907.

207. Sex differences in cardiovascular, neuroendocrine and behavioral changes evoked by chronic stressors in rats. J. O.Vieira, J. O. Duarte, W. Costa-Ferreira [et al]. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2018. No. 2. P. 426–437.

208. Spierse et al J.G. Activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal stress axis induces cellular oxidative stress. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2015. Vol. 8. P. 1–6.

209. Steptoe A., Kivimaki M. Stress and cardiovascular disease: an update on current knowledge. *An. Rev. Pub. Health*. 2013. Vol.34. P. 337-354.

210. Sumbaiev V.V, Yasinskaya I.M. Influence of DDT on the activity of nitric oxide synthase in the liver, lungs and brain of rats. *Modern Problems of Toxicology*. 2000. Vol. 3. P. 3–7.

211. Taverne Y. J.H.J., Bogers A.J.J.C. Reactive oxygen species and the cardiovascular system. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013. Vol. 2013. №862423. P. 1-15.

212. Tavernu R.D., Langdon R.G. Bioch. *Biophys.Acta*. 1973. Vol. 298. P. 422.

213. Therapeutic application of Nitric Oxide in Cancer and Inflammatory Disorders. Edited by Lucia Mortidelli and Benjamin Bonavida. *Elsevier Academic Press*. 2019. P. 113-123.

214. Tully P. J., Cosh S. M., Baumeister H. The anxious heart in whose mind? A systematic review and meta-regression of factors associated with anxiety disorder diagnosis, treatment and morbidity risk in coronary heart disease. *J. Psychosom. Res.* 2014. Vol. 7. №6. P.439-448.

ДОДАТОК А.1

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного медичного
університету ім. І.Я. Горбачевського
професор І.М. Кліш

„10” 11.06.2022 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні особливості розвитку іммобілізаційного стресу в умовах адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Лис О.Б.
Джерело інформації: Лис О.Б., Грушка О.І. Особливості змін активності трансаміназ у крові в динаміці поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2020. №3/4(91). С.26-30.
Базова установа, яка проводить впровадження: Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології
3. **Термін впровадження:** лютий-березень 2022 р.
4. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Патофізіологія серцево-судинної системи», «Гіпоксія», «Патофізіологія нервової системи».
5. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри патологічної фізіології
Тернопільського національного медичного
університету ім. І.Я. Горбачевського,
доктор медичних наук, професор

О.В. Денефіль

ДОДАТОК А.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перша проректорка

Івано-Франківського національного
медичного університету

д.біол.н., проф. Ганна ЕРСТЕНЮК

« 22 » грудня 2022 р.



АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні особливості розвитку іммобілізаційного стресу в умовах адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном.
- 2. Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Лис О.Б.
Джерело інформації: Лис О.Б., Грушка О.І. Особливості змін активності трансаміназ у крові в динаміці поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2020. №3/4(91). С.26-30.
- Базова установа, яка проводить впровадження:** Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра патологічної фізіології
- 3. Термін впровадження:** лютий-березень 2022 р.
- 4. Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Патофізіологія серцево-судинної системи», «Гіпоксія», «Патофізіологія нервової системи».
- 5. Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри патологічної фізіології
Івано-Франківського національного
медичного університету,
заслужений діяч науки і техніки України,
доктор медичних наук, професор

Любомир ЗАЯЦЬ

ДОДАТОК А.3

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
Львівського медичного інституту
професор Ю.В.Федоров



2022 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні особливості розвитку іммобілізаційного стресу в умовах адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном.

2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.

Розроблювачі: Лис О.Б.

Джерело інформації: Лис О.Б., Грушка О.І. Особливості змін активності трансаміназ у крові в динаміці поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2020. №3/4(91). С.26-30.

Базова установа, яка проводить впровадження: Львівський медичний інститут, кафедра анатомії, фізіології та патології.

3. **Термін впровадження:** лютий-березень 2022 р.

4. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Патофізіологія серцево-судинної системи», «Гіпоксія», «Патофізіологія нервової системи».

5. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри анатомії, фізіології та патології

Львівського медичного інституту, доцент

Рябуха О.І.

ДОДАТОК А.4

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з науково-педагогічної
роботи Буковинського державного
медичного університету

доцент

Геруш І.В.

2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні особливості розвитку іммобілізаційного стресу в умовах адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном.

2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.

Розроблювачі: Лис О.Б.

Джерело інформації: Лис О.Б., Грушка О.І. Особливості змін активності трансаміназ у крові в динаміці поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2020. №3/4(91). С.26-30.

Базова установа, яка проводить впровадження: Буковинський державний медичний університет, кафедра патологічної фізіології

3. **Термін впровадження:** лютий-березень 2022 р.

4. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Патофізіологія серцево-судинної системи», «Гіпоксія», «Патофізіологія нервової системи».

5. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології

Буковинського державного медичного
університету, д. мед. н., професор



Ю.С. Роговий

ДОДАТОК А.5

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Т.в.о. Першого проректора з науково-педагогічної роботи

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
к.біол.н., доцент І.І. Солонинко

«29» 04 2022 р.



АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні особливості розвитку іммобілізаційного стресу в умовах адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном

2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.

Розроблювачі: Лис О.Б.

Джерело інформації: Лис О.Б., Грушка О.І. Особливості змін активності трансаміназ у крові в динаміці поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2020. №3/4(91). С.26-30.

Базова установа, яка проводить впровадження: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра патологічної фізіології

3. **Термін впровадження:** березень-квітень 2022 р.

4. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Патофізіологія серцево-судинної системи», «Гіпоксія», «Патофізіологія нервової системи».

5. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології

Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького,

доктор медичних наук, професор

М.С. Перега

ДОДАТОК Б

Список публікацій за темою дисертації:

- **Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Peculiarities of disorders of nitrogen oxide system in the blood at adrenalin-induced myocardial injury in conditions of immobilization stress and their correction by l-arginine. **Лис О.Б.**, Регеда М.С., Семенців Н. Г., Регеда-Фурдичко М.М, Регеда С.М. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2021. Vol. №4 (32). P. 24-28.

2. **Lys O.**, Regeda M. Endogenic intoxication in blood under conditions of combination pathology – immobilizational stress and adrenaline myocardial damage and correction of L-Arginin. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9(3). P. 218-224.

3. **Лис О.Б.**, Регеда М.С., Грушка О.І. Особливості порушень процесів пероксидного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові у динаміці розвитку іммобілізаційного стресу при адреналіновому ушкодженні міокарда. *Вісник наукових досліджень*. 2018 №3. С. 134-137. (Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

4. **Лис О.Б.**, Регеда М.С. Ступінь ендогенної інтоксикації в динаміці розвитку поєднаної патології — іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарду. *Вісник наукових досліджень*. 2019 № 1. С.131-134. (Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

5. **Лис О.Б.** Стан ендогенної інтоксикації в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарду. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2019. № 2(86). С. 46–50. (Особистий внесок -

самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

6. Лис О.Б., Грушка О.І. Особливості змін активності трансаміназ у крові в динаміці поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2020. №3/4(91). С.26-30. (Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

• **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

7. Lys O. Content of diene konugatives and malonic dialdehyde in blood for rats in dynamics of formation of immobilizational stress. *Conference "Technology transfer: innovative solutions in medicine"* 30.10.2018, Tallinn, Estonia, 2018. С.18-20.

8. Lys O. Molecules of the middle mass in immobilizational stress development dynamics. «*Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку та корекції патологічних станів*»: матеріали міжвузівської науково-практичної конференції молодих учених та студентів з міжнародною участю 5-6 квітня 2019 року, Харків. 2019. С.17.

9. Лис О.Б. Особливості змін активності трансаміназ у крові в умовах розвитку іммобілізаційного стресу. *Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках*: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 4–5 грудня 2020 р. Київ. 2020. С.12 -13

10. Лис О.Б. Активність трансаміназ в крові при адреналіновому пошкодженні міокарда. *Перспективні напрямки розвитку сучасних медичних та фармацевтичних наук*: збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції 12-13 лютого 2021

ДОДАТОК В

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ:

- міжнародна науково-практична конференція «Conference "Technology transfer: innovative solutions in medicine» (Tallinn, Estonia, 2018) *(публікація)*;
- міжвузівської науково-практичної конференції молодих учених та студентів з міжнародною участю «Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку та корекції патологічних станів» (Харків, 2019) *(публікація)*;
- міжнародна науково-практична конференція «Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках» (Київ, 2020) *(публікація)*;
- міжнародна науково-практична конференція «Перспективні напрямки розвитку сучасних медичних та фармацевтичних наук» (Дніпро, 2021) *(публікація)*.