



## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 616.341–085–089

### ВПЛИВ L–АРГІНІНУ, ІММОБІЛІЗОВАНОГО НА ХІРУРГІЧНОМУ ШОВНОМУ МАТЕРІАЛІ, НА ОКИСНЮВАЛЬНИЙ ОБМІН У НАВКОЛОРАНОВИХ ТКАНИНАХ ОПЕРОВАНОЇ ТОНКОЇ КИШКИ

*Т. Г. Діхтенко, А. А. Левков, В. О. Костенко*

*Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава*

### IMPACT OF L–ARGININ, IMMOBILIZED ON SURGICAL SUTURE MATERIAL, ON THE OXIDATION METABOLISM IN THE PERIWOUND TISSUES OF OPERATED SMALL BOWEL

*T. G. Dikhtenko, A. A. Levkov, V. O. Kostenko*

#### РЕФЕРАТ

В експерименті на 50 білих щурах лінії Вістар досліджений вплив L–аргініну за умови системного та місцевого введення (у складі синтетичного шовного матеріалу, що розсмоктується) на показники вільнорадикальних та біоенергетичних процесів у тканинах тонкої кишки після експериментальної ентеротомії. Показано, що при введенні L–аргініну у навколоранових тканинах тонкої кишки на 3–тю добу після операції зменшуються продукція супероксидного аніон–радикалу, процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що запобігає зниженню антиоксидантного (АО) потенціалу, збільшується вміст макроергічних сполук та енергетичний потенціал (ЕП). Результати дослідження свідчать, що ефективність L–аргініну обґрунтовує доцільність створення нового фармакологічно модифікованого синтетичного шовного матеріалу, здатного попереджати вільнорадикальний та гіпоксичний некробіоз, стимулювати процеси загоєння хірургічної рани.

**Ключові слова:** L–аргінін; шовний матеріал; полігліколід; окиснювальний обмін; ентеротомія; експеримент.

#### SUMMARY

In experiment on 50 white rats of the Wistar line there was investigated the impact of L–arginin, while its systemic and local (in a content of synthetic absorbable suture material) application, on the indices of a free–radical and bioenergetics processes in a small bowel tissues after experimental enterotomy. There was shown, that as a consequence of L–arginin application there in periwound tissues of a small bowel on the third postoperative day the superoxidal anion–radical production and the processes of peroxidal oxidation of lipids (POL) go down, what prophylaxes the antioxidant potential lowering and a content of the macroergic complexes and energetic potential enhancement. The investigation results witness, that the L–arginin efficacy substantiates the need for creation of a new pharmacologically modified synthetic suture material, which prophylaxes the free–radical and hypoxic necrobiosis and stimulates healing processes in a surgical wound.

**Key words:** L–arginin; suture material; polyglycolid; oxidation metabolism; enterotomy; experiment.

**К**омплекси амінокислот, які рекомендують застосовувати під час передопераційної підготовки, лікування післяопераційних ускладнень, травм середньої тяжкості та тяжких, опіків, запально–деструктивних захворювань, містять як необхідний компонент L–аргінін [1]. Це двоосновна, катіоноактивна амінокислота, попередник орнітину, цитруліну, глутамату, глутаміну, глутатіону, аміномасляної кислоти, оксиду азоту (NO), креатину, поліамінів та інших сполук [2].

L–аргінін має досить потужну бактеріостатичну та бактерицидну дію. Це пов'язують з високою полярністю його бічного ланцюга (+20,0) [2]. Зовнішні стінки мікроорганізмів заряджені негативно, мембрани теплокровних – практично нейтральні. L–аргінін, контактуючи з мембранами мікроорганізмів, нетоксичний для клітин еукаріот. Взаємодіючи з мембраною мікроорганізмів, він змінює її структуру та проникність, згубно діючи навіть на збудників, стійких до різних антибіотиків. L–аргінін пригнічує ріст патогенної мікрофлори, сприяє загоєнню гнійних ран.

У літературі є численні повідомлення про здатність L–аргініну поліпшувати перебіг ранового процесу, механічної травми та синдрому поліорганної недостатності, що особливо важливо у ранньому післяопераційному періоді [2, 3].

При застосуванні L–аргініну збільшується проліферація T–лімфоцитів, поліпшуються функції та морфологічні характеристики ентероцитів [4], збільшується концентрація інсуліну та інсуліно-

подібного фактору росту в плазмі крові, поліпшується азотистий баланс у пацієнтів з злоякісними пухлинами [5].

Раніше нами в експерименті на щурах показано, що застосування L-аргініну (внутрішньоочеревинно) перед відтворенням гострої непрохідності тонкого кишечника гальмує у тканинах тонкої кишки активацію ПОЛ, зниження АО потенціалу та ЕП, поліпшує стан кишкового бар'єру [6]. При введенні L-аргініну до складу кетгуту (шляхом електролізної імпрегнації) прискорювався процес загоєння навколоранових тканин в зоні тонкокишкового анастомозу [6].

Певні перспективи щодо місцевого застосування цієї сполуки як засобу регуляції метаболізму та репаративних процесів у навколоранових тканинах відкриваються у зв'язку з створенням експериментальних зразків біологічно активного синтетичного шовного матеріалу на основі полігліколевої кислоти з введенням L-аргініну до складу полімеру (НВО "Біополімер", Полтава). Проте, вплив іммобілізованого таким чином L-аргініну на навколоранові тканини не вивчений.

Метою дослідження є оцінка впливу L-аргініну за умови системного та місцевого введення (у складі синтетичного шовного матеріалу, що розсмоктується) на показники вільнорадикальних та біоенергетичних процесів у тканинах тонкої кишки білих щурів після здійснення експериментальної ентеротомії.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведені на 50 білих щурах лінії Вістар масою тіла 180–220 г. У першій серії досліджували показники вивчали в інтактних тварин (контрольна); у другій – виконували несправжню операцію (наркоз, розріз шкіри без лапаротомії); у третій – виконували ентеротомію з зашиванням рани полігліколідною ниткою; у четвертій – після виконання ентеротомії з зашиванням рани полігліколідною ниткою щурам внутрішньоочеревинно вводили L-аргінин (щоденно протягом 3 діб після операції у дозі 100 мг/кг); у п'ятій – виконували ентеротомію з зашиванням рани полігліколідною ниткою, модифікованою L-аргініном (в концентрації 4,5 мг на 1 м нитки).

Для дослідження використовували субстанцію L-аргініну виробництва "Kyowa Hakko Kogyo Co Ltd" (Японія), як шовний матеріал – полігліколевую кислоту (мефіл, виробництва НВО "Біополімер", Полтава). Експериментальна серія полігліколіду, модифікованого L-аргініном, виготовлена на базі НВО "Біополімер". Оперативне втручання у тварин виконували під наркозом тіопентал–натрієм (40 мг/кг маси тіла). Тварин виводили з експеримента шляхом дислокації шийних хребців під наркозом ефіром.

Утворення супероксидного аніон–радикала ( $O_2^-$ ) у навколоранових тканинах тонкої кишки оцінювали за допомогою тесту з нітросинім тетразолієм з такими індукторами: НАДН – для оцінки продукції  $O_2^-$  мітохондріальним електронно–транспортним ланцюгом (ЕТЛ); НАДФН – для оцінки продукції  $O_2^-$  мікросомальним ЕТЛ [7]. Інтенсивність ПОЛ у тканинах оцінювали за утворенням в реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК–активними продуктами забарвленого триметинового комплексу до і після інкубації протягом 1,5 год у залізо–аскорбатному буферному розчині [8]. Активність АО системи оцінювали за збільшенням концентрації ТБК–активних продуктів за період інкубації протягом 1,5 год у залізо–аскорбатному буферному розчині, а також за активністю АО ферментів – супероксиддисмутази (СОД) та каталази [8].

Концентрацію аденозинтри-, ди- та монофосфатів (АТФ, АДФ, АМФ) визначали з використанням набору фірми "Behringer Mannheim GmbH" (Мангейм, Німеччина); ЕП обчислювали за формулою:

$$EP = (ATP + 0,5ADP) / (ATP + ADP + AMP).$$

Отримані дані обробляли за варіаційно–статистичним методом з використанням критерію Ст'юдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Продукція  $O_2^-$  мікросомальним і мітохондріальним ЕТЛ у тканинах тонкої кишки інтактних щурів становила відповідно  $(30,3 \pm 0,9)$  та  $(22,0 \pm 0,5)$  нмоль/(г × с). При виконанні несправжньої операції (контрольна серія) цей показник достовірно не змінювався (табл. 1).

На 3–тю добу після ентеротомії у навколоранових тканинах тонкої кишки відзначали достовірне збільшення продукції  $O_2^-$  мікросомальним і мітохондріальним ЕТЛ – відповідно на 18,3 і 15,2% у порівнянні з такою при виконанні "несправжньої" операції.

$O_2^-$  належить до активних форм кисню та відіграє провідну роль у формуванні оксидантного стресу [7, 9].

Введення L-аргініну (системне та у складі полігліколідної нитки) достовірно гальмує продукцію  $O_2^-$  мікросомальним і мітохондріальним ЕТЛ – відповідно на 6,2 та 9,8% у порівнянні з такою у третій серії. Проте, системне введення L-аргініну істотно не впливає на вироблення  $O_2^-$  мітохондріальним ЕТЛ. У той же час, введення L-аргініну у складі полігліколідної нитки достовірно зменшує продукцію  $O_2^-$  мітохондріальним ЕТЛ, яка на 12,5% менше такої у третій серії та на 10,7% – у четвертій серії.

Вплив багатьох прозапальних чинників, у тому числі цитокінів, на метаболізм клітин опосередкований стимуляцією утворення АФК [9]. Цитокіни прояв-

Таблиця 1. Вплив L-аргініну на зміни вільнорадикальних процесів у навколоранових тканинах оперованої тонкої кишки щурів (n=20)

Показник	Величина показника в с еріях дослідів ( $\bar{x} \pm m$ )			
	несправжня операція (контроль)	модель ентеротомії		
		Контроль	+ L-аргінін (системно)	+ L-аргінін (у складі ШМР)
Продукція $\text{O}_2^-$ , нмоль/(г × с)				
мікросомальним ЕТЛ	31,1±0,5	36,8±0,4*	34,5±0,7* <sup>Δ</sup>	33,2±0,8* <sup>Δ</sup>
мітохондріальним ЕТЛ	22,3±0,3	25,7±0,4*	25,2±0,8*	22,5±0,3 <sup>Δ#</sup>
Концентрація ТБК–реактивів, мкмоль/кг				
до інкубації	42,8±1,6	54,3±2,0*	45,7±4,9	42,8±1,3 <sup>Δ</sup>
після інкубації	58,7±1,1	75,9±1,9*	63,9±1,5* <sup>Δ</sup>	63,0±1,7 <sup>Δ</sup>
збільшення	15,8±1,5	21,6±1,7*	18,3±4,8	20,2±2,0
СОД, од. акт.	1,17±0,11	1,58±0,12*	1,27±0,29	1,25±0,11
Каталазний індекс	6,94±0,29	8,05±0,39*	7,54±0,75	7,43±0,29

Примітка. ШМР – шовний матеріал, що розсмоктується. Різниця показників достовірна у порівнянні з такими: \* – у другій серії ("несправжня операція"); <sup>Δ</sup> – у третій серії; <sup>#</sup> – у четвертій серії (P < 0,05). Те ж у табл. 2.

ляють значну агресивну дію: пошкоджують структуру білків та молекул ДНК, активують процеси ПОЛ, що спричиняє порушення мембранних структур і життєвих функцій клітин.

Концентрація ТБК–активних сполук у тканинах тонкої кишки інтактних щурів до і після інкубації протягом 1,5 год у залізо–аскорбатному буферному розчині становила відповідно (39,0 ± 2,0) та (56,7 ± 3,1) мкмоль/кг. Збільшення концентрації ТБК–реактивів за час інкубації – (17,8 ± 3,1) мкмоль/кг. При виконанні "несправжньої" операції концентрація ТБК–активних сполук до і після інкубації достовірно не змінювалась.

На 3–тю добу після ентеротомії у навколоранових тканинах тонкої кишки відзначали достовірне збільшення концентрації ТБК–активних сполук до інкубації – на 26,9%) та після неї – на 29,3% у порівнянні з такою у другій серії. За цих умов спостерігали суттєве збільшення приросту концентрації ТБК–реактивів за період інкубації (на 36,7%), що свідчило про формування антиоксидантної недостатності у навколоранових тканинах тонкої кишки.

Системне введення L–аргініну достовірно не впливало на концентрацію ТБК–активних сполук до інкубації, проте, після інкубації цей показник зменшувався на 15,8% у порівнянні з таким у третій серії. При введенні L–аргініну у складі полігліколідної нитки концентрація ТБК–активних сполук достовірно зменшувалася як до інкубації (на 21,2%), так і після неї (на 17,0%) у порівнянні з такою у третій серії. Введення L–аргініну у складі полігліколідної нитки, як і за його системного застосування, запобігає достовірному зменшенню приросту концентрації ТБК–реактивів за період інкубації, характерному для третьої серії.

Активність АО ферментів у тканинах тонкої кишки інтактних щурів становила: СОД – (1,12 ± 0,18) ум. од., каталазний індекс – 6,94 ± 0,29. При виконанні

"несправжньої" операції активність цих ферментів у тканинах тонкої кишки достовірно не змінювалась.

На 3–тю добу після ентеротомії у навколоранових тканинах тонкої кишки активність СОД і каталазний індекс достовірно збільшувалися – відповідно на 35,0 та 16,0% у порівнянні з такими після виконання "несправжньої" операції. Системне введення L–аргініну та його застосування у складі полігліколідної нитки достовірно не впливало на активність СОД і каталази у порівнянні з такою у другій та третій серіях.

Функціональний стан тонкої кишки значною мірою залежить від стану енергетичного метаболізму у ній. Відома висока чутливість слизової оболонки тонкої кишки до гіпоксії. Саме у ній виявляли стійкі зміни у судинному руслі при гіпоксії / ішемії та реперфузії [10]. При цьому біоенергетичний некробіоз вважають одним з основних механізмів формування неспроможності швів після операції.

Концентрація аденіннуклеотидів у тканинах тонкої кишки інтактних щурів становила: АТФ – (1,52 ± 0,08) мкмоль/г, АДФ – (0,66 ± 0,07) мкмоль/г, АМФ – (0,13 ± 0,02) мкмоль/г, сума аденіннуклеотидів – (2,31 ± 0,24) мкмоль/г, ЕП – 0,799 ± 0,017. При виконанні "несправжньої" операції вміст і співвідношення аденіннуклеотидів достовірно не змінювались (табл. 2).

На 3–тю добу після ентеротомії у навколоранових тканинах тонкої кишки відзначали достовірне зменшення концентрації АТФ і АДФ – відповідно на 16,9 та 20,6% у порівнянні з такою у другій серії. Вміст АМФ збільшувався у 6,75 рази. ЕП знижувався на 19,7% у порівнянні з таким у другій серії. Все це свідчило про значне зменшення ресинтезу макроергічних сполук у навколоранових тканинах тонкої кишки.

Системне введення L–аргініну сприяло достовірному збільшенню вмісту АТФ – на 13,3%, зменшенню вмісту АМФ – на 64,8% у порівнянні з таким у третій серії. ЕП підвищувався на 18,9%.

Таблиця 2. Вплив L-аргініну на зміни вмісту та співвідношення аденіннуклеотидів у навколоранових тканинах оперованої тонкої кишки щурів

Показник	Величина показника в серії дослідів ( $\bar{x} \pm m$ )			
	несправжня операція (контроль)	модель ентеротомії		
		контроль	+ L-аргінін (системно)	+ L-аргінін (у складі ШМР)
АТФ, мкмоль/г	1,54±0,06	1,28±0,04*	1,45±0,06 <sup>Δ</sup>	1,47±0,04 <sup>Δ</sup>
АДФ, мкмоль/г	0,68±0,05	0,54±0,03*	0,64±0,05	0,69±0,04 <sup>Δ</sup>
АМФ, мкмоль/г	0,08±0,01	0,54±0,03*	0,19±0,01* <sup>Δ</sup>	0,21±0,01* <sup>Δ</sup>
ЕП	0,816±0,013	0,655±0,080*	0,773±0,013* <sup>Δ</sup>	0,763±0,007* <sup>Δ</sup>

Введення L-аргініну у складі полігліколідної нитки сприяло достовірному збільшенню вмісту АТФ і АДФ — відповідно на 14,8 та 27,8%, зменшенню вмісту АМФ — на 61,1% у порівнянні з таким у третій серії. ЕП підвищувався на 17,4%, що запобігало виникненню біоенергетичного некробіозу, створювало передумови для своєчасного загоєння хірургічної рани та попереджувало розходження швів.

Таким чином, введення L-аргініну у складі полігліколідної нитки сприяло досягненню позитивного результату за умов його використання у дозі, значно меншій, ніж при системному введенні, що зменшувало ризик появи побічних реакцій [11].

## ВИСНОВКИ

1. Введення L-аргініну у складі полігліколіду у навколоранових тканинах тонкої кишки на 3-тю добу після ентеротомії гальмує продукцію супероксидного аніон-радикалу мікросомальним і мітохондріальним ЕТЛ, процеси ПОЛ, запобігає зниженню АО потенціалу, збільшує вміст макроергічних сполук та ЕП.

2. Результати застосування в експерименті на лабораторних тканинах L-аргініну у складі полігліколідної нитки свідчать про ефективність цього засобу корекції вільнорадикальних і біоенергетичних процесів у навколоранових тканинах тонкої кишки, що обґрунтовує доцільність створення нового фармакологічно модифікованого синтетичного шовного матеріалу, здатного попереджувати виникнення вільнорадикального та гіпоксичного некробіозу та стимулювати процеси загоєння хірургічної рани.

## ЛІТЕРАТУРА

- Coman D. New indications and controversies in arginine therapy / D. Coman, J. Yapliro-Lee, A. Boneh // Clin. Nutr. — 2008. — Vol. 27, N 4. — P. 489 — 496.
- Аргинин в медицинской практике / Ю. М. Степанов, И. Н. Кононов, А. И. Журбина, А. Ю. Филиппова // Журн. АМН України. — 2004. — Т. 10, № 1. — С. 340 — 352.
- Barbul A. Use of exogenous arginine in multiple organ dysfunction syndrome and sepsis / A. Barbul, A. Uliyargoli // Crit. Care Med. — 2007. — Vol. 35, N 9, suppl. — P. 564 — 567.
- Tong B.C. Cellular and physiological effects of arginine / B.C. Tong, A. Barbul // Min. Rev. Med. Chem. — 2004. — Vol. 4, N 8. — P. 823 — 832.
- High dose of arginine enhanced enteral nutrition in postsurgical head and neck cancer patients: A randomized clinical trial // D. A. De Luis, O. Izaola, L. Cuellar [et al.] // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. — 2009. — Vol. 13, N 4. — P. 279 — 283.
- Костенко В. О. Експериментальне обґрунтування корекції L-аргініном, іммобілізованим на шовному матеріалі, метаболічних розладів за умов хірургічної травми / В. О. Костенко, Л. В. Скотнікова, А. А. Левков // Загальна патологія та патол. фізіологія. — 2010. — Т. 5, № 2. — С. 18.
- Цебржинский О. И. Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом / О. И. Цебржинский // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Укр. мед. стомат. академії. — 2002. — Т. 2, № 1. — С. 96 — 97.
- Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Л. В. Беркало, О. В. Бобович, Н. О. Боброва [та ін.]; за ред. І. П. Кайдашева. — Полтава, 2003. — 320 с.
- Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков [и др.]. — М.: Слово, 2006. — 556 с.
- Ишемические и реперфузионные повреждения тонкой кишки при странгуляционной кишечной непроходимости / С. Ф. Барненко, Г. И. Синенченко, С. А. Повзун [и др.] // Скорая мед. помощь. — 2004. — Т. 5, № 3. — С. 68 — 69.
- Loscalzo J. Adverse effects of supplemental L-arginine in atherosclerosis / J. Loscalzo // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2003. — Vol. 23, N 1. — P. 3 — 5.

