



С. М. Чуклін, С. С. Чуклін, Г. В. Шершень
КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня»

Особливості запальних процесів оксидативного і нітрозативного стресу в разі L-орнітин-індукованого гострого панкреатиту

Вступ. У 70,0–80,0 % хворих на гострий панкреатит (ГП) спостерігається легкий перебіг, але у 20,0–30,0 % хвороба перебігає тяжко, з істотною смертністю до 30,0–40,0 % [4]. Органна недостатність є провідним чинником, що визначає тяжкість і стає основною причиною ранньої смертності, тоді як вторинні інфекції, зокрема, інфікований панкреонекроз і сепсис, відповідають за пізні смертельні випадки [6].

Патогенез ГП і досі загадка для вчених. Проте значні досягнення в галузі фундаментальних досліджень в останнє десятиріччя збагатили відомості про патофізіологічні процеси в разі захворювання на ГП. Цитокіни [20], вільні радикали кисню та азоту [3], Ca^{2+} [21], стрес ендоплазматичного ретикулуму [27], нейтрофіли [18], автофагія [28], DAMP (pathogen-associated molecular pattern) [12], металопротеїнази [17], адипокіни [15], ядерний фактор NF- κ B [14], молекули адгезії [13], мітохондріальна дисфункція [8], ішемія підшлункової залози (ПЗ) [26] були визначені як важливі чинники в патогенезі ГП та його системних ускладнень. Але попри прогрес у розумінні ранніх подій за ГП потрібні дослідження для швидкого й точного прогнозування тяжкого перебігу хвороби, а також оптимального лікування. Незамінною підмогою у цьому питанні є вивчення патогенезу ГП в експерименті на лабораторних тваринах.

Мета дослідження. Визначити особливості запальних процесів, оксидативного і нітрозативного стресу в разі L-орнітин-індукованого гострого панкреатиту.

Матеріали й методи дослідження. Експеримент був проведений на 32 білих щурах лінії Wistar масою 200,0–250,0 г відповідно до Європейських рекомендацій для роботи з лабораторними тваринами (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals). Щурів поділили на дві групи: перша – з індукованим гострим некротичним панкреатитом (16 щурів), друга – контрольна (16 інтактних щурів). Гострий панкреатит провокували інтраперитонеальною ін'єкцією L-орнітину (3,0 г/кг

[22]). У цьому випадку виникав тяжкий панкреатит, що важливо для вивчення ураження віддалених органів за цього ураження. Через п'ять діб тварин виводили з експерименту декапітацією під анестезією.

Проводили біохімічне дослідження, а також визначали показники запалення, оксидативного і нітрозативного стресу в сироватці крові й тканині ПЗ. Вміст у сироватці крові P-амілази визначали на біохімічному аналізаторі Cobas e 411 (Roche Diagnostics Ltd., Швейцарія). Концентрацію H_2S визначали за методом A. Svenson [24], використовуючи дипіридилдисульфат (N, N-DPD, Sigma, США). Активність мієлопероксидази (МПО) в тканині ПЗ вимірювали за методом P. P. Bradley і співавторів [7]. Для з'ясування активності NO-синтази (Ca^{2+} -залежної і Ca^{2+} -незалежної) застосовували комбінацію класичного методу [23] і сучасну його модифікацію [10], пристосовану для спектрофотометричного вимірювання одного з продуктів реакції – L-цитруліну. Активність iNOS визначали за методикою, аналогічною до попередньої з деякими відмінностями: для визначення активності Ca^{2+} -незалежної NOS у інкубаційну суміш замість $CaCl_2$ додавали 2,0 мкмоль ЕДТА. Сумарну активність sNOS (eNOS + nNOS) обчислювали, віднімаючи від сумарної активності NOS активність iNOS. Активність ферментів виражали в наномолях новоутвореного L-цитруліну за 1 хв в розрахунок на 1,0 мг загальною білка в пробі.

Статистичне обчислення показників проводили непараметричними методами за допомогою стандартних комп'ютерних програм (Statistica Version 6, StatSoft, Inc.; SPSS Statistics 17.0, IBM) із визначенням середнього арифметичного (M), стандартного відхилення (SD). Різницю між незалежними групами обчислювали за Н. В. Mann – D. R. Whitney. Різницю вважали істотною за $p < 0,05$. Проводили також кореляційний аналіз С. Е. Spearman із обчисленням R, K. Pearson із визначенням коефіцієнта кореляції r.

Результати дослідження та їх обговорення. Одним із проявів запалення є накопичення нейтрофілів у паренхімі органів. Міграція лейкоцитів до вогнища запалення – одна з перших ланок у патогенезі ГП. Нейтрофіли відрізняються високою рухливістю і чутливістю до різних хемотактичних і активувальних чинників. Саме це забезпечує їм роль наймобільніших клітин крові, які передусім потрапляють у вогнище запалення і залучаються до запальних процесів. Нейтрофільну секвестрацію в запалених тканинах можна визначити кількісно, вимірюючи активність тканинної МПО [19]. Мієлопероксидаза є гемопротейном, який зберігається в азурофільних гранулах поліморфно-ядерних нейтрофілів і макрофагів. Вона каталізує перетворення хлориду та пероксиду водню на гіпохлорит і секретується активованими нейтрофілами під час запального стану. Мієлопероксидаза характеризується сильними окиснювальними і прозапальними властивостями. Під час запалення МПО, що виділяється нейтрофілами, акумулюється в субендотеліальному матриксі зв'язуванням і трансцитозом через судинний ендотелій. Оксидативні реакції, що каталізуються МПО, яка розташована в субендотелії, спричиняють ендотеліальну дисфункцію [5].

У разі експериментального ГП у щурів у тканині ПЗ істотно, в середньому в 2,99 разу, зростала активність МПО ($Z = -4,82418, p = 0,000001$). Водночас вміст Р-амілази в сироватці крові щурів із ГП збільшився на 270,45 % ($Z = -4,82418, p = 0,000001$) (див. таблицю).

Показники запалення і нітрозативного стресу в підшлунковій залозі, Р-амілаза і сульфід нітрогену в сироватці крові щурів із L-орнітин-індукованим гострим панкреатитом (M ± SD)

Показники	Щурі з панкреатитом (n = 16)	Контрольна група (n = 16)
МПО, МО/мг білка	13,23 ± 2,63*	4,43 ± 1,39
Р-амілаза, МО/л	6879,96 ± 2596,42*	1857,19 ± 587,69
cNOS, нмоль/хв/мг білка	372,55 ± 92,98 (n = 11)	378,75 ± 87,06 (n = 11)
iNOS, нмоль/хв/мг білка	668,74 ± 272,64* (n = 11)	352,07 ± 65,10 (n = 11)
% cNOS	37,38 ± 5,85* (n = 11)	51,78 ± 4,38 (n = 11)
H ₂ S, мкмоль/л	71,71 ± 7,83* (n = 11)	91,98 ± 3,22 (n = 11)

Примітка. * – істотність різниці порівняно з контролем ($p < 0,001$).

Зауважено, що активність МПО у тканині ПЗ щурів вірогідно прямо корелювала з концентрацією Р-амілази в сироватці крові ($R = 0,586087, p = 0,002616; r = 0,56, p < 0,05$) (рис. 1).

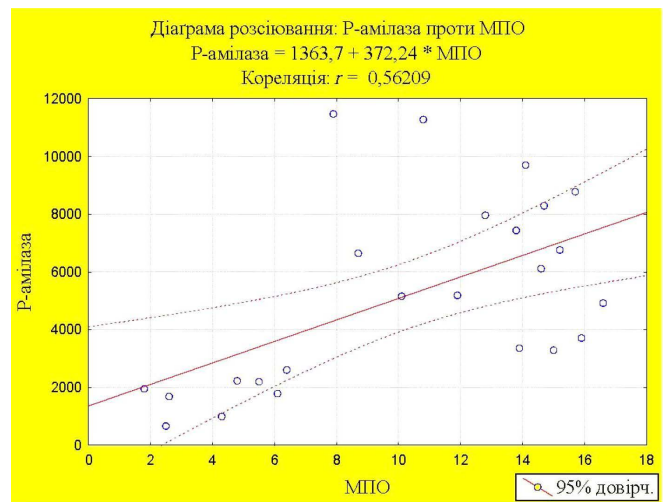


Рис. 1. Кореляційна залежність активності мієлопероксидази у тканині підшлункової залози з вмістом Р-амілази в сироватці крові у щурів із L-орнітин-індукованим гострим панкреатитом.

Участь нейтрофілів у запальній відповіді починається зі зростання їх концентрації в ділянці ушкодження, де відбувається їх адгезія з клітинами ендотелію посткапілярних венул. Здатність активованих нейтрофілів ушкоджувати клітини ґрунтується на двох механізмах: утворювати активні метаболіти кисню і вивільняти протеолітичні ферменти – еластазу, β -глюкоронідазу, катепресин В і МПО. Унаслідок активування нейтрофілів може виникнути оксидативний стрес. Найнебезпечніша складова оксидативного стресу – утворення активних форм кисню (АФК) (reactive oxygen species, ROS). АФК включають високоактивний гідроксильний радикал ($\bullet\text{OH}$), супероксидний радикал ($\text{O}_2^{\bullet-}$), іон гіпохлориту ($\text{OCl}^{\bullet-}$) і пероксид водню (H_2O_2). ДНК, ліпіди та білки клітин є мішенями окисного ушкодження АФК. Кожний вільний радикал, що утворився в організмі, може ініціювати серію ланцюгових реакцій, які відбуваються доти, доки не будуть видалені вільні радикали. Крім цього, МПО взаємодіє із тромбоцитами й активує їх набагато сильніше, ніж класичні активатори тромбоцитів [16]. Під дією цього ферменту посилюється експресія Р-селектину на поверхні тромбоцитів і суттєво збільшується формування ними кисневих радикалів.

Незначні ушкодження наявні навіть у нормальних клітинах. АФК, що утворюються як побічні продукти нормального клітинного метаболізму (переважно внаслідок невеликого витоку електронів у дихальному ланцюзі мітохондрій, а також інших реакцій у цитоплазмі), не провокують ушкодження клітини. Проте вміст АФК, що перевищує захисні можливості клітини, викликає серйозні клітинні порушення (наприклад, виснаження аденозинтрифосфату) і, як наслідок, руйнування клітини. Залежно від сили стресу клітини можуть загинути в результаті апоптозу, коли внутрішній вміст клітини встигає деградувати до нетоксичних продуктів, або в результаті некрозу, коли сила оксидативного стресу занадто велика. За некро-

зу клітинна мембрана порушується, і вміст клітини вивільняється в навколишнє середовище, ушкоджуючи прилеглі клітини і тканини.

Останнім часом з'явилося багато підтверджень тісного взаємозв'язку продукції вільних радикалів кисню та NO [2]. Оксид нітрогену є одним із універсальних регуляторів фізіологічних функцій організму з досить широким спектром біологічної дії і в оптимальних концентраціях, звичайно, діє позитивно, зокрема, спроможний пригнічувати каспази, індукцію апоптозу [1].

Проте синтез NO в концентраціях, що перевищують допустимі базові показники, може бути причиною виникнення нітрозативного стресу, зумовленого утворенням активних форм нітрогену (АФН), насамперед, пероксинітриду і продукту його деградації діоксиду нітрогену. Як один із маркерів нітрозаційного стресу розглядається утворення низькомолекулярних і високомолекулярних нітрозотіолів, зокрема, продуктів нітрозилування протеїнів.

Як показали результати досліджень (див. таблицю), у щурів із ГП зростає активність індукційного (кальційнезалежного) *de novo* синтезу NO – у 1,9 разу порівняно з групою інтактних щурів ($Z = -3,31608$, $p = 0,000913$). Водночас активність кальційзалежної NO-синтази у тканині ПЗ майже не змінювалася. Відомо, що iNOS може активувати процеси пероксидного окиснення ліпідів. Посилений синтез NO, спричинений індукцією iNOS, призводить до непрямого механізму дії NO. Непряма дія NO опосередковується через його реактивні форми, які є продуктом реакції NO з O_2 , O_2^- або H_2O_2 , і поєднується з посиленим утворенням реактивних форм кисню [25]. Індукційна NOS, яка представлена NOS-2, з'являється у клітинах лише після індукції їх бактеріальними ендотоксинами і деякими медіаторами запалення. Зокрема, цей процес можуть провокувати цитокіни, зокрема, інтерлейкіни (ІЛ)-1, ІЛ-2, фактор некрозу пухлин (ФНП). У патогенез пізньої фази запалення робить внесок лише NO, що продукується за допомогою iNOS, локалізованої в лейкоцитах. На цій стадії запального процесу NO стимулює синтез і вивільнення прозапальних цитокінів – ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-3, ІЛ-6, лейкотрієнів, хемокінів, які своєю чергою стимулюють міграцію лейкоцитів у вогнище запалення. iNOS контролює також біосинтез ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-11 та ІЛ-13, які належать до протизапальних цитокінів [11]. Пролонгована в часі висока концентрація може призвести до порушення балансу активності внутрішньоклітинних сигнальних шляхів. Активні радикали азоту активують або пригнічують білки іонних каналів, ядерні фактори транскрипції, кінази, каспази, металопротеїнази, метилтрансферази, фосфодіестерази.

Частка показника фізіологічного конститутивного синтезу NO (окисного метаболізму L-аргініну за відсотком cNOS) у ПЗ хворих на ГП виразно знизилася – до $37,38 \pm 5,85$ % ($Z = 3,710073$, $p = 0,000207$) порівняно з практично здоровими щурами ($51,78 \pm 4,38$ %) (див. таблицю).

За результатами експериментальних досліджень, активність МПО у ПЗ істотно прямо корелювала з активністю iNOS ($R = 0,625071$, $p = 0,001868$; $r = 0,49$, $p < 0,05$) (рис. 2) і зворотно – з часткою cNOS ($R = -0,731225$, $p = 0,000111$; $r = -0,77$, $p < 0,05$) (рис. 3), що свідчить про інтенсифікацію синтезу патологічного NO в разі посилення запального процесу у щурів із ГП.

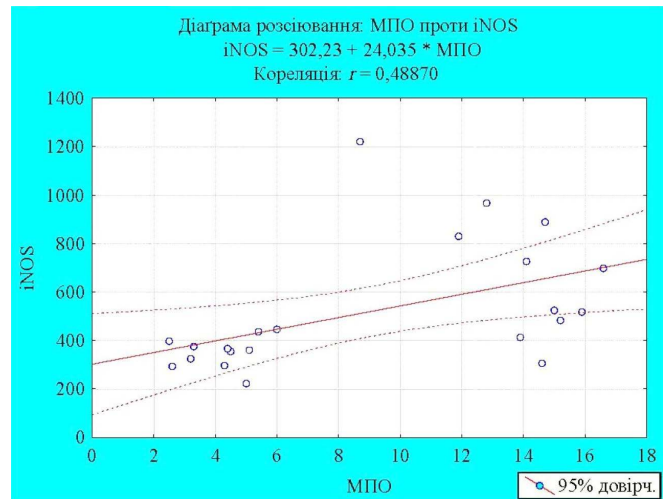


Рис. 2. Кореляційна залежність активності мієлопероксидази з активністю iNOS у тканині підшлункової залози щурів із L-орнітин-індукованим гострим панкреатитом.

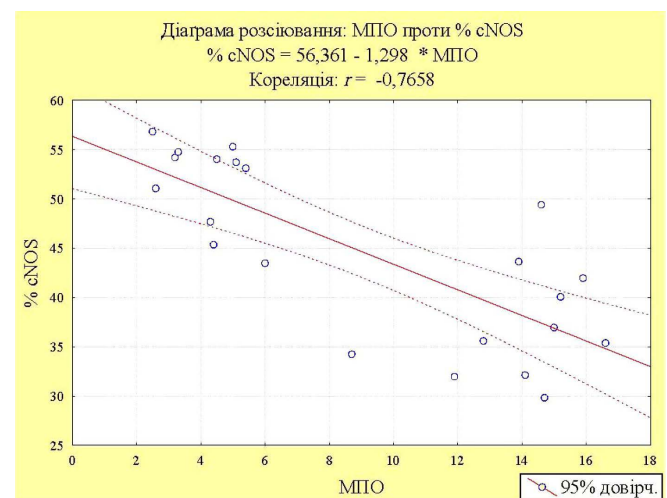


Рис. 3. Кореляційна залежність активності мієлопероксидази з часткою cNOS у тканині підшлункової залози щурів із L-орнітин-індукованим гострим панкреатитом.

Водночас майже така ж кореляційна залежність визначена між вмістом Р-амілази в сироватці крові щурів із активністю iNOS ($R = 0,704122$, $p = 0,000255$) і часткою cNOS ($R = -0,785432$, $p = 0,000015$) у тканині ПЗ (рис. 4).

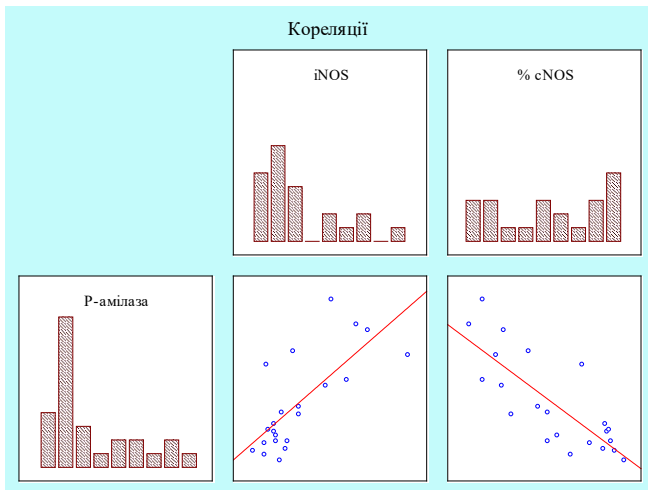


Рис. 4. Кореляційна залежність вмісту Р-амілази в сироватці крові з часткою cNOS і активністю iNOS у тканині підшлункової залози щурів із L-орнітин-індукованим гострим панкреатитом.

Останнім часом увага прикута до H_2S – одного з газотрансмітерів. Доведена його протизапальна і цитопротективна роль, включаючи блокування індукбельної NOS. Сульфід гідрогену може бути прямим скавенджером $OH\cdot$ радикала або запобігати його продукції. Проте часто звертають увагу і на патологічний вплив H_2S за наявності гострих і хронічних запальних процесів. Сульфід гідрогену має виражені протизапальні властивості. Він пригнічує адгезію лейкоцитів до ендотелію судин і їх міграцію до субендотеліального простору, зменшуючи утворення набряку. H_2S також послаблює експресію прозапальних медіаторів за допомогою зниження експресії NF- κ B. Він сприяє відновленню тканин, має судинорозширювальну дію, посилює продукцію АТФ [9].

Показник H_2S вірогідно зменшувався у щурів із L-орнітин-індукованим панкреатитом до $71,71 \pm 7,83$ мкмоль/л (у інтактних щурів $91,98 \pm 3,22$ мкмоль/л) ($Z = 4,598048, p = 0,000004$) (див. таблицю). За такої умови вміст H_2S достовірно зворотно корелював із активністю у тканині ПЗ МПО ($R = -0,645262, p = 0,000005$) і iNOS ($R = -0,679286, p = 0,000098$), вмістом Р-амілази в сироватці крові ($R = -0,712917, p = 0,000001$) (рис. 5). Зі зменшенням показника H_2S у сироватці крові зменшувалася також частка фізіологічного конститутивного синтезу NO у ПЗ ($R = 0,724089, p = 0,000139$) (рис. 5).

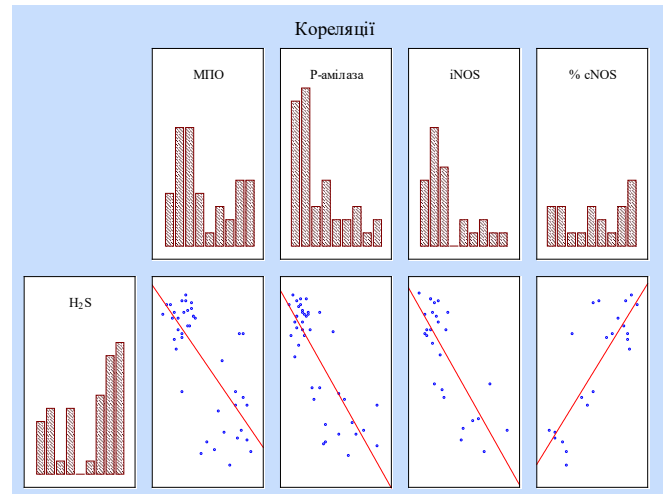


Рис. 5. Кореляційна залежність концентрації H_2S у сироватці крові з часткою cNOS, активністю iNOS і мієлопероксидази у тканині підшлункової залози і вмістом Р-амілази у сироватці крові щурів із L-орнітин-індукованим гострим панкреатитом.

Отже, отримані результати свідчать, що з посиленням запалення у ПЗ вміст H_2S у сироватці крові щурів зменшується. Можливо, у випадку експериментального ГП H_2S має протизапальну дію, а його недостатній синтез підсилює патологічний процес.

Висновки. Результати експерименту свідчать про вагоме значення у патогенезі гострого панкреатиту оксидативного і нітрозативного стресу (рис. 6), недостатності синтезу фізіологічних газотрансмітерів. Це може бути підґрунтям для вивчення лікарських засобів, які збільшують вміст фізіологічного оксиду нітрогену і H_2S .

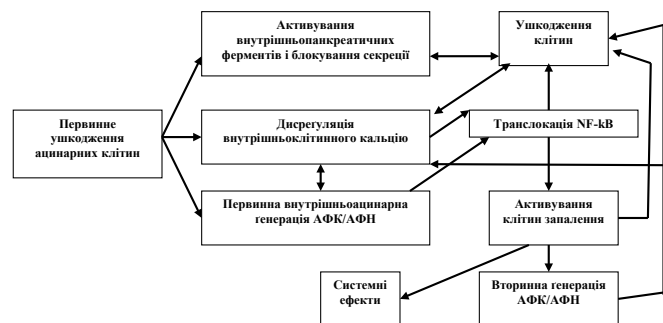


Рис. 6. Роль АФК/АФН в ураженні клітин за гострого панкреатиту.

Список літератури

1. Бондарчук ТІ. Вплив вітамінів С та Е на процеси ліпопероксидації та активність NO-синтазної системи в підшлунковій залозі щурів на тлі адреналін-індукованого стресу. Буковинський медичний вісник. 2014;18(2):14–17 (Bondarchuk T. Influence of vitamins C and E on lipoperoxidation processes and activity of the NO-synthase system in pancreatic gland of rats on the background of adrenalin-induced stress. Bukovinsky Medical Bulletin. 2014;18(2):14-17) (Ukrainian).
2. Яремчук ОЗ. Дослідження концентрації нітрит-аніона та прозапальних цитокінів при гострому експериментальному панкреатиті та за дії модулятора синтезу оксиду азоту. Медична хімія. 2013;15(40):89–95 (Yaremchuk O. Investigation of the concentration of nitrite anion and proinflammatory cytokines in acute experimental pancreatitis and the action of the modulator of nitric oxide synthesis. Medical Chemistry. 2013;15(40):89-95) (Ukrainian).
3. Abogresha NM, Greish SM, Abdelaziz EZ, Khalil WF. Remote effect of kidney ischemia-reperfusion injury on pancreas: role of oxidative stress and mitochondrial apoptosis. Arch Med Sci. 2016;12(2):252-262. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.48130>

4. Agarwal S, George J, Padhan RK, Vadiraja PK, Behera S, Hasan A et al. Reduction in mortality in severe acute pancreatitis: A time trend analysis over 16 years. *Pancreatology*. 2016;16(2):194-199. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2016.01.012>
5. Alipour A, Ribalta J, Njo TL, Janssen HW, Birnie E, van Miltenburg AJ et al. Trans-vessel gradient of myeloperoxidase in coronary artery disease. *Eur J Clin Invest*. 2013;43(9):920-925. <https://doi.org/10.1111/eci.12121>
6. Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG et al. Classification of acute pancreatitis—2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut*. 2013;62(1):102-111. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302779>
7. Bradley PP, Christensen RD, Rothstein G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. *Blood*. 1982;60(3):618-622.
8. Chakraborty M, Hickey AJ, Petrov MS, Macdonald JR, Thompson N, Newby L et al. Mitochondrial dysfunction in peripheral blood mononuclear cells in early experimental and clinical acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2016;16(5):739-747. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2016.06.659>
9. Chan MV, Wallace JL. Hydrogen sulfide-based therapeutics and gastrointestinal diseases: translating physiology to treatments. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2013;305(7):G467-73. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00169.2013>
10. Chin SY, Pandey KN, Shi SJ, Kobori H, Moreno C, Navar LG. Increased activity and expression of Ca(2+)-dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1999;277(5):F797-804. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1999.277.5.F797>
11. Gotoh T, Mori M. Nitric oxide and endoplasmic reticulum stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(7):1439-1446. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000223900.67024.15>
12. Habtezion A. Inflammation in acute and chronic pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2015;31(5):395-399. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000195>
13. Han X, Wang Y, Chen H, Zhang J, Xu C, Li J, Li M. Enhancement of ICAM-1 via the JAK2/STAT3 signaling pathway in a rat model of severe acute pancreatitis-associated lung injury. *Exp Ther Med*. 2016;11(3):788-796. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.2988>
14. Jakkampudi A, Jangala R, Reddy BR, Mitnala S, Nageshwar Reddy D, Talukdar R. NF- κ B in acute pancreatitis: Mechanisms and therapeutic potential. *Pancreatology*. 2016;16(4):477-488. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2016.05.001>
15. Jiang CY, Wang W. Resistin aggravates the expression of proinflammatory cytokines in cerulein-stimulated AR42J pancreatic acinar cells. *Mol Med Rep*. 2017;15(1):502-506. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.6027>
16. Kolarova H, Klinke A, Kremserova S, Adam M, Pekarova M, Baldus S et al. Myeloperoxidase induces the priming of platelets. *Free Radic Biol Med*. 2013;61:357-369. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.04.014>
17. Li H, Liu J, Wang W, Zhang Z, Li D, Lin K et al. Matrix metalloproteinase 9 and vasodilator-stimulated phosphoprotein related to acute kidney injury in severe acute pancreatitis rats. *Dig Dis Sci*. 2015;60(12):3647-3655. <https://doi.org/10.1007/s10620-015-3820-8>
18. Merza M, Hartman H, Rahman M, Hwaiz R, Zhang E, Renström E et al. Neutrophil extracellular traps induce trypsin activation, inflammation, and tissue damage in mice with severe acute pancreatitis. *Gastroenterology*. 2015;149(7):1920-1931.e8. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.08.026>
19. Mullane KM, Kraemer R, Smith B. Myeloperoxidase activity as a quantitative assessment of neutrophil infiltration into ischemic myocardium. *J Pharmacol Methods*. 1985;14(3):157-167. [https://doi.org/10.1016/0160-5402\(85\)90029-4](https://doi.org/10.1016/0160-5402(85)90029-4)
20. Pendharkar SA, Singh RG, Petrov MS. Cross-talk between innate cytokines and the pancreatic polypeptide family in acute pancreatitis. *Cytokine*. 2017;90:161-168. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.11.014>
21. Pérez S, Pereda J, Sabater L, Sastre J. Redox signaling in acute pancreatitis. *Redox Biol*. 2015;5:1-14. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.014>
22. Rakonczay Z Jr, Hegyi P, Dósa S, Iványi B, Jármay K, Biczó G et al. A new severe acute necrotizing pancreatitis model induced by L-ornithine in rats. *Crit Care Med*. 2008;36(7):2117-2127. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31817d7f5c>
23. Salter M, Knowles RG, Moncada S. Widespread tissue distribution, species and changes in activity of Ca²⁺-dependent and Ca²⁺-independent nitric oxide synthases. *FEBS Lett*. 1991;291(1):145-149. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(91\)81123-P](https://doi.org/10.1016/0014-5793(91)81123-P)
24. Svenson A. A rapid and sensitive spectrophotometric method for determination of hydrogen sulfide with 2,2'-dipyridyl disulfide. *Anal Biochem*. 1980;107(1):51-55. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(80\)90490-X](https://doi.org/10.1016/0003-2697(80)90490-X)
25. Tejero J, Shiva S, Gladwin MT. Sources of vascular nitric oxide and reactive oxygen species and their regulation. *Physiol Rev*. 2019;99(1):311-379. <https://doi.org/10.1152/physrev.00036.2017>
26. Tomkötter L, Erbes J, Trepte C, Hinsch A, Dupree A, Bockhorn M et al. The effects of pancreatic microcirculatory disturbances on histopathologic tissue damage and the outcome in severe acute pancreatitis. *Pancreas*. 2016;45(2):248-253. <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000000440>
27. Wu JS, Li WM, Chen YN, Zhao Q, Chen QF. Endoplasmic reticulum stress is activated in acute pancreatitis. *J Dig Dis*. 2016;17(5):295-303. <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12347>
28. Zhu H, Huang L, Zhu S, Li X, Li Z, Yu C, Yu X. Regulation of autophagy by systemic admission of microRNA-141 to target HMGB1 in L-arginine-induced acute pancreatitis in vivo. *Pancreatology*. 2016;16(3):337-346. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2016.03.004>

Стаття надійшла до редакції журналу 02.05.2019 р.

Особливості запальних процесів оксидативного і нітрозативного стресу в разі L-орнітин-індукованого гострого панкреатиту

С. М. Чуклін, С. С. Чуклін, Г. В. Шершень

Вступ. Незважаючи на прогрес у розумінні ранніх подій у разі гострого панкреатиту (ГП), необхідні додаткові дослідження для швидшого й точного прогнозування тяжкого перебігу хвороби, а також оптимального лікування.

Мета. Визначити особливості запальних процесів, оксидативного і нітрозативного стресу в разі L-орнітин-індукованого гострого панкреатиту.

Матеріали й методи. Експеримент був проведений на 32 білих щурах лінії Wistar. Щурів поділили на дві групи: перша – з індукованим гострим некротичним панкреатитом (16 щурів), друга – контрольна (16 інтактних щурів). Проводили біохімічне дослідження, а також визначали показники запалення, оксидативного і нітрозативного стресу в сироватці крові й тканині підшлункової залози (ПЗ).

Результати. У щурів із експериментальним ГП у тканині ПЗ істотно, в середньому в 2,99 разу, підвищувалася активність мієлопероксидази (МПО). Активність МПО у тканині ПЗ щурів вірогідно прямо корелювала з концентрацією Р-амілази в сироватці крові. У щурів із гострим панкреатитом зростала активність індукбельного (кальційнезалежного) *de novo* синтезу NO – у 1,9 разу порівняно з групою інтактних щурів. Водночас активність кальційзалежної NO-синтази у тканині ПЗ майже не змінювалася. За результатами експериментів визначено, що активність МПО у ПЗ істотно прямо корелювала з активністю iNOS і зворотно – з часткою cNOS. Майже така ж кореляційна залежність визначена між вмістом Р-амілази в сироватці крові щурів із активністю iNOS і часткою cNOS у тканині ПЗ. Показник H_2S вірогідно зменшувався у щурів із L-орнітин-індукованим панкреатитом. За такої умови вміст H_2S достовірно зворотно корелював з активністю у тканині ПЗ МПО та iNOS, вмістом Р-амілази в сироватці крові. Зі зменшенням показника H_2S у сироватці крові зменшувалася і частка фізіологічного конститутивного синтезу NO у ПЗ.

Висновки. Отримані результати експерименту свідчать про вагоме значення у патогенезі гострого панкреатиту оксидативного і нітрозативного стресу, недостатності синтезу фізіологічних газотрансмітерів.

Ключові слова: гострий панкреатит, запалення, оксидативний і нітрозативний стрес.

Peculiarities of Inflammation, Oxidative/Nitrosative Stress in L-Ornithine-Induced Acute Pancreatitis

S. Chooklin, S. Chuklin, G. Shershen

Introduction. The pathogenesis of acute pancreatitis (AP) continues to be a mystery to scientists. However, significant achievements in the field of fundamental research in the last decade have improved the information on pathophysiological processes in the AP. However, despite the progress in understanding early events in AP, additional research is needed to quickly and accurately predict the severe course of the disease, as well as more specific and purposeful treatment. Indispensable help in this issue is to study the pathogenesis of AP in an experiment in laboratory animals.

The aim of the study. Determine the features of inflammatory processes, oxidative and nitrosative stress in L-ornithine-induced acute pancreatitis.

Materials and methods. Experiment was conducted on 32 white rats of the Wistar line. Rats were divided into two groups: 1 - with induced acute necrotizing pancreatitis (16 rats), 2 - control (16 intact animals). Acute pancreatitis was caused by intraperitoneal injection of L-ornithine (3 g/kg). They conducted a biochemical study, as well as determination of indicators of inflammation, oxidative/nitrosative stress in blood serum and pancreatic tissue. The statistical calculation of the indicators was carried out using nonparametric methods.

Results. At experimental AP in rats in the tissue of software significantly (an average of 2.99 times) increased activity of myeloperoxidase (MPO). In this case, the level of P-amylase in serum of blood rats with AP increased by 270.45 %. It was noted that the activity of MPO in the rat's soft tissue was probably correlated with the concentration of P-amylase in serum. In rats with acute pancreatitis, the activity of inducible (calcium-independent) *de novo* synthesis of NO increased by 1.9 times compared with the group of intact rats ($p = 0.000913$). At the same time, activity of calcium-dependent NO-synthase in the tissue of software practically did not change. The proportion of physiological constitutive synthesis of NO (oxidic metabolism of L-arginine by percentage of cNOS) in the diet of practically healthy rats was, on average, 51.78 ± 4.38 %, whereas in rats with AP, there was a marked decrease of this indicator - up to 37.38 ± 5.85 %. According to the results of experimental data, it was determined that the activity of MPO in the software substantially correlated with the activity of iNOS and inversely with the proportion of cNOS, which indicates an increase in the synthesis of pathological NO in the intensification of the inflammatory process in rats at the AP. At the same time, almost the same correlation is determined between the level of P-amylase in blood serum of rats with activity of iNOS ($p = 0.000255$) and the share of cNOS ($p = 0.000015$) in the tissue of the software.

H_2S significantly lowered in L-ornithine-induced pancreatitis in rats to 71.71 ± 7.83 mmol/L (in intact rats 91.98 ± 3.22 mmol/L) ($p = 0.000004$). At the same time, the concentration of H_2S significantly correlated inversely with MPO activity in the tissue ($p = 0.000005$) and iNOS ($p = 0.000098$), serum P-amylase concentration ($p = 0.000001$). With the decrease in the level of H_2S in serum, the proportion of physiological constitutive synthesis of NO in the software decreased ($p = 0.000139$).

Conclusions. The obtained results of the experiment indicate a significant importance in the pathogenesis of AP oxidative and nitrosative stress, lack of synthesis of physiological gasotransmitters.

Keywords: acute pancreatitis, inflammation, oxidative/nitrosative stress.