

СЕРІЯ «Загальна медицина»

УДК 616.381-002-039.5:615.355:577.15-06:616.379-008.64]-092.4/.9

[https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-13\(31\)-834-844](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-13(31)-834-844)

Вервега Богдана Михайлівна, доктор медичних наук, доцент, професор кафедри патологічної фізіології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010, тел.: (032) 236-84-50, <https://orcid.org/0000-0002-7463-5899>

Денефіль Ольга Володимирівна, доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри патологічної фізіології, Тернопільський національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001, тел.: (0352) 52-44-92, <https://orcid.org/0000-0002-3606-5215>

Боднар Петро Ярославович, доктор медичних наук, доцент, доцент кафедри хірургії № 1 з урологією та малоінвазивною хірургією імені Л. Я. Ковальчука, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001, тел.: (0352) 52-44-92, <https://orcid.org/0000-0001-9285-6516>

СТАН СИСТЕМИ ПРОТЕЇНАЗИ/ІНГІБІТОРИ ПРОТЕЇНАЗ У ЩУРІВ У ДИНАМІЦІ ГОСТРОГО ЗАПАЛЕННЯ ОЧЕРЕВИНИ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Анотація. Пріоритетними завданнями вивчення перебігу гострого поширеного перитоніту та супутнього цукрового діабету є дослідження стану протеїназо-інгібіторного гомеостазу, що є однією із складових патогенетичної платформи коморбідності. Мета дослідження – встановити особливості функціонування системи протеїнази/інгібітори протеїназ за умов експериментального гострого поширеного перитоніту на тлі цукрового діабету. Дослідження проведено на 32 статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях. Тварин поділено на дві групи: контрольну (щури, яким вводили підшкірно 0,9 % розчин натрію хлориду), щури зі змодельованим гострим запаленням очеревини та супутнім цукровим діабетом. Цукровий діабет моделювали шляхом одноразового інтраперитонеального введення стрептозотоцину (60 мг/кг). На 14 добу розвитку стрептозотоциніндукованого цукрового діабету у черевну порожнину тварин вводили 10 % профільтровану калову суспензію (0,5 мл) та ініціювали гострий поширений перитоніт. Для дослідження активності протеїназної системи та вмісту інгібіторів протеолізу використані спектрофотометричні методи.

Результати експерименту показали, що маніфестація експериментального гострого поширеного перитоніту в поєднанні із стрептозотоциндукованим цукровим діабетом характеризується збільшенням кількості продуктів розпаду азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену, що свідчить про підвищену деградацію високомолекулярних і низькомолекулярних протеїнів та колагену. Посилення протеолітичних процесів на фоні депресії антипротеїназного потенціалу впродовж усіх стадій моделювання гострого поширеного перитоніту та супутнього цукрового діабету, особливо виражене на термінальну стадію, що підтверджується збільшенням лізису азоальбуміну на 80,9 % ($p < 0,001$), азоказеїну на 90,0 % ($p < 0,01$), азоколагену на 131,0 % ($p < 0,001$) та зниженням рівня α -2-макроглобулінів на 49,1 % ($p < 0,001$), α -1-інгібітора протеїназ на 45,6 % ($p < 0,001$) порівняно із контрольними величинами.

Розвиток гострого запалення очеревини на тлі цукрового діабету характеризується порушенням рівноваги системи протеїнази/інгібітори протеїназ у плазмі крові, що підтверджується наростанням лізису азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену та зниження рівнів α -2-макроглобуліну та α -1-інгібітора протеїназ.

Ключові слова: гострий поширений перитоніт; стрептозотоциндукований цукровий діабет; протеїназо-інгібіторна система.

Verveha Bohdana Mykhailivna, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Pathological Physiology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, 69, Pekarska Str., Lviv, 79010, tel.: (032) 236-84-50, <https://orcid.org/0000-0002-7463-5899>

Denefil Olha Volodymyrivna, Doctor of Medicine, Professor, Chief of the Department of Pathological Physiology, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, 1, Maidan Voli, Ternopil, 46001, tel.: (0352) 52-44-92, <https://orcid.org/0000-0002-3606-5215>

Bodnar Petro Yaroslavovych, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of L.Ya. Kovalchuk Surgery No.1, Urology, Minimally Invasive Surgery, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, 1, Maidan Voli, Ternopil, 46001, tel.: (0352) 52-44-92, <https://orcid.org/0000-0001-9285-6516>

STATE OF THE PROTEASES AND PROTEASE INHIBITORS IN RATS IN THE DYNAMICS OF ACUTE PERITONEAL INFLAMMATION AGAINST THE BACKGROUND OF DIABETES MELLITUS

Abstract. The priority tasks of studying the course of acute generalized peritonitis against the background of diabetes mellitus are the study of the state of

proteases and protease inhibitors, which is one of the components of the pathogenetic platform of comorbidity. The aim of the study is to establish the features of the functioning of the proteases and protease inhibitors under the conditions of experimental acute generalized peritonitis against the background of diabetes mellitus. The study was performed on 32 non-linear white mature male rats. Animals were divided into two groups: control (rats injected subcutaneously with 0.9 % sodium chloride solution), rats with simulated acute peritonitis and accompanying diabetes. Diabetes mellitus was modeled by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (60 mg/kg). On the 14th day of the development of streptozotocin-induced diabetes mellitus, a 10 % filtered fecal suspension (0.5 ml) was injected into the abdominal cavity of animals and acute generalized peritonitis was initiated. Spectrophotometric methods were used to study the activity of the proteinase system and the content of proteolysis inhibitors.

The results of the experiment showed that the manifestation of experimental acute generalized peritonitis against the background streptozotocin-induced diabetes mellitus is characterized by an increase of the level of proteolytic transformation azoalbumin, azocasein, and azocollagen, which indicates increased degradation of high and low molecular weight proteins and collagen. Strengthening of proteolytic processes against the background of depression of the antiprotease potential during all stages of simulation of acute generalized peritonitis and concomitant diabetes mellitus, especially pronounced at the terminal stage, which is confirmed by an increase in the lysis of azoalbumin by 80.9 % ($p < 0.001$), azocasein by 90.0 % ($p < 0.01$), azocollagen by 131.0 % ($p < 0.001$) and a decrease in the level of alpha 2-macroglobulin by 49.1 % ($p < 0.001$), alpha1-proteinase inhibitor by 45.6 % ($p < 0.001$) compared with control values.

The development of acute inflammation of the peritoneum against the background of diabetes mellitus is characterized by an imbalance of the proteases and protease inhibitors in the blood plasma, which is confirmed by the increase in the lysis of azoalbumin, azocasein, azocollagen and a decrease in the levels of α -2-macroglobulin and α -1-protease inhibitor.

Keywords: acute generalized peritonitis, diabetes mellitus, proteases and protease inhibitor.

Постановка проблеми. Гострий поширений перитоніт (ГПП) є одним із найважчих нозологічних одиниць в абдомінальній хірургії. Підґрунтям важкого перебігу та високих показників смертності при гострому запаленні очеревини часто є супутня патологія, серед котрої від 7,5 % до 14,0 % складає цукровий діабет [1-4]. Провідним механізмом патофізіологічних порушень при перитоніті є розвиток запального процесу. Серед низки факторів, що беруть участь у формуванні запалення очеревини і здатних у подальшому призводити до розвитку ускладнень, особливу увагу привертає роль системи протеїнази/інгібітори протеїназ.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Ушкодження лізосомальних мембран при запаленні, а також екзоцитоз лейкоцитів та підвищення проникності клітинних мембран сприяють системній активації протеїназ [5]. Регуляція активності протеїназ в організмі здійснюється їх інгібіторами, серед яких важливу роль відіграють α -2-макроглобулін та α -1-інгібітор протеїназ. Альфа-2-макроглобулін – це високомолекулярний глікопротеїн плазми, який зв’язує декілька видів цитокінів, включаючи інтерлейкін-6, фактор некрозу пухлини- α та IL-1 β [6]. Основною функцією α -1-інгібітора протеїназ є гальмування тканинного протеолізу. При розвитку ГПП виникає дисбаланс у системі протеїнази/інгібітори протеїназ виникає як в результаті підвищеної продукції або активності протеїназ, так і в результаті інактивації або зниженої продукції їх інгібіторів [7, 8]. Активація вільнорадикального окиснення протеїнів при розвитку запального процесу очередини посилює клітинну і тканинну деструкцію, процеси цитолізу, та, ймовірно, пригнічує активність інгібіторів протеїназ. Дослідження активності протеолізу при ГПП та супутньому цукровому діабеті висвітлюються у працях Гринчука Ф.В. та Гринчука А.Ф. [9], однак стан системи протеїнази/інгібітори протеїназ в динаміці даної поєднаної патології ще залишається не вивченим.

Мета статті – встановити особливості функціонування системи протеїнази/інгібітори протеїназ за умов експериментального гострого поширеного перитоніту на тлі цукрового діабету.

Виклад основного матеріалу. Дослідження проведене на 32 статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях, яких утримували у віварії згідно зі “Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)”. Експерименти проводилися відповідно до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986); Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986 р.); Закону України №3447 – IV “Про захист тварин від жорстокого поводження”; Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.), що підтверджено заключенням членів комісії з біоетики ЛНМУ імені Данила Галицького (протокол №8 від 23 листопада 2020 р., протокол №6 від 22 червня 2021 р.). З метою дослідження стану системи протеїнази/інгібітори протеїназ в крові у динаміці формування гострого поширеного перитоніту на тлі цукрового діабету тварин було поділено на наступні групи: контрольну (щури, яким вводили підшкірно 0,9 % розчин натрію хлориду), щури із змодельованим гострим запаленням очередини та супутнім цукровим діабетом.

Інсулінозалежну форму цукрового діабету відтворювали за Ramos-Lobo A.M. [10] шляхом одноразового введення у черевну порожнину натщесерце стрептозотоцину (фірми “Sigma”) в дозі 60 мг/кг, який розчинено

попередньо в буферному натрієво-цитратному розчині ($\text{pH}=4.5$). Перед ін'єкцією тричі здійснювали обробку правої здухвинної ділянки 10 % розчином бетадину. Голку вводили під кутом 45° до поверхні передньої черевної стінки до відчуття її “провалювання”. Після ін'єкції тварини отримували *per os* розчин глюкози протягом перших 24 год з метою запобігання транзиторної гіпоглікемії. Вміст глюкози впродовж експерименту досліджували глюкозооксидазним методом. На 14 добу розвитку стрептозотоциніндукованого цукрового діабету (СТД) визначали рівень глюкози у крові щурів та проводили подальше моделювання гострого запалення очеревини (поєднаної патології) у тварин із рівнем гіперглікемії, що переважав 11.1 ммоль/л.

ГПП моделювали класичним методом шляхом введення 10 % профільтрованої калової суспензії у черевну порожнину в дозі 0,5 мл на 100 г маси тварини. Калову суспензію отримували, змішуючи ізотонічний розчин і вміст сліпої кишки трьох інтактних тварин, та двічі фільтруючи її через подвійний шар марлі. Калову суспензію вводили не пізніше ніж через 20 хвилин від моменту її приготування. З метою запобігання ушкодження внутрішніх органів, тварин тримали у вертикальному положенні, каудальним кінцем догори. Методом пункції вентральної стінки в центрі серединної лінії передньої черевної стінки, направляючи кінець голки почергово у ділянку правого та лівого підребер'я, у праву і ліву здухвинні ділянки, вводили необхідну кількість калової суспензії. Ця модель за етіологічними чинниками, клінічними проявами і фазністю перебігу близька до аналогічного процесу в людини.

Експериментальних тварин виводили з досліду шляхом передозування тіопенталу натрію (з розрахунку 100 мг/кг маси). Дослідження показників системи протеїнази/інгібітори протеїназ у сироватці крові проводили на першу, третю та сьому доби від моменту введення калової суспензії. Дані терміни відповідають реактивній, токсемічній та термінальній стадії перитоніту.

Загальну протеолітичну активність плазми визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну й азоколагену (“Simko Ltd”, Україна). Принцип методу полягає в тому, що при інкубації білкових азосполук у присутності активаторів та інгібіторів протеолізу, які містяться у плазмі крові, відбувається лізис азоальбуміну (деградація низькомолекулярних протеїнів), лізис азоказеїну (протеоліз високомолекулярних протеїнів) та лізис азоколагену (колагеноліз). Визначали вміст ендогенних інгібіторів протеолізу (α -2-макроглобулін та α -1-інгібітор протеїназ). Принцип методу визначення вмісту α -2-макроглобуліну полягає у тому, що α -2-макроглобулін утворює активний комплекс із трипсином, який є нечутливим до дії інгібітору із бобів сої. Вміст α -1-інгібітора протеїназ визначали за різницею між відомою кількістю трипсину і ферментом, який залишився після його взаємодії із інгібіторами плазми.

Статистичне опрацювання отриманих даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel та Statistica 6.0. Проводили розрахунок середнього значення (M), похибки середньої арифметичної (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами при нормальному розподілі встановлювали за t -критерієм Стюдента (достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$).

Моделювання ГПП тваринам, яким попередньо було ініційовано СТД, приводило до виражених змін протеолітичної активності сироватки крові. Так, лізис азоальбуміну у тварин на першу, третю та сьому доби дослідження підвищився на 22,7 %, 72,7 % ($p < 0,001$), 80,9 % ($p < 0,001$) відповідно порівняно із контролем (табл. 1). Лізис азоальбуміну на третю та сьому доби вірогідно збільшувався на 40,7 % ($p_1 < 0,05$) і 47,4 % ($p_1 < 0,01$) порівняно із першою добою дослідження.

Таблиця 1

Рівень азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену в крові у динаміці формування ГПП на тлі СТД ($M \pm m$)

Групи тварин		Кількість тварин	Лізис азоальбуміну, $\text{мл}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$	Лізис азоказеїну, $\text{мл}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$	Лізис азоколагену, $\text{мл}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$
Контрольна група тварин		8	$2,20 \pm 0,04$	$2,0 \pm 0,04$	$0,52 \pm 0,02$
Тварини із ГПП на тлі СТД	перша доба	8	$2,7 \pm 0,24$	$2,82 \pm 0,41$	$0,94 \pm 0,03$ $p < 0,001$
	третя доба	8	$3,8 \pm 0,32$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	$2,96 \pm 0,43$ $p < 0,05$	$0,99 \pm 0,03$ $p < 0,001$
	сьома доба	8	$3,98 \pm 0,34$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$	$3,8 \pm 0,44$ $p < 0,01$	$1,2 \pm 0,04$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Примітка: p – достовірність різниці стосовно таких показників контрольної групи тварин; p_1 – достовірність відмінностей стосовно показників на першу добу розвитку ГПП на тлі СТД; p_2 – достовірність відмінностей стосовно показників на третю добу розвитку ГПП на тлі СТД.					

Зміни показників лізису азоказеїну протягом усіх етапів дослідження даної поєднаної патології мали аналогічну спрямованість до показника азоальбуміну. Так, лізис азоказеїну в крові підвищувався на 41,0 %, 48,0 % ($p < 0,05$) та 90,0 % ($p < 0,01$) на першу, третю та сьому доби відносно контрольних значень.

Динаміка протеолітичної активності змінювалась залежно від стадії ГПП у досліджувані терміни. Виявлено, що на першу, третю та сьому доби розвитку ГПП на тлі СТД спостерігається вірогідне значне наростання лізису азоколагену в крові відповідно на 80,8 %, 90,4 % та 130,8 % стосовно контролю ($p < 0,001$), що є свідченням різкого підвищення колагенолітичної активності плазми крові впродовж розвитку гострого запалення очеревини за умов коморбідності. Рівень азоколагену у тварин із поєднаною патологією на третю та сьому доби переважав на 27,7 % і 21,2 % ($p_1 < 0,001$) значення на першу добу дослідження.

Отримані дані вказують на те, що за умов розвитку експериментального ГПП та супутнього СТД інтенсифікація плазмового лізису низькомолекулярних і високомолекулярних білків поєднується із різким підвищенням колагенолітичної активності плазми крові та може свідчити на посилення процесів деструкції у черевній порожнині. Зростання загальної протеолітичної активності плазми в динаміці розвитку ГПП на тлі СТД обумовлене надходженням протеолітичних ферментів із різноманітних джерел. Під час реактивної стадії ГПП основним джерелом протеїназ є сегментоядерні нейтрофіли. Активація цих клітин у ділянці запалення супроводжується дестабілізацією їх мембран, що призводить до виходу лізосомальних ферментів, які в свою чергу індукують вибіркового протеоліз, що призводить до активації калікреїн-кінінової системи та системи комплементу. Під час токсичної стадії ГПП у сироватці крові циркулюють як власні сироваткові активовані протеїнази, так і тканинні та мікробні протеолітичні ферменти. На термінальну стадію основними джерелами протеїназ є тканини.

Встановлено вірогідне зниження вмісту α -2-макроглобуліну в крові тварин на 35,2 % ($p < 0,001$) вже на першу добу дослідження відносно показника у контрольній групі (табл. 2). На третю добу вміст α -2-макроглобуліну знижувався на 44,4 % ($p < 0,001$) відносно контролю та був на 14,3 % нижчим ($p_1 < 0,001$) порівняно із першою добою дослідження. Найнижчий рівень α -2-макроглобуліну виявлено на сьому добу ($1,1 \pm 0,01$ г/л) із різницею 49,1 % ($p < 0,001$) стосовно контрольного значення. Спостерігали вірогідне зниження α -2-макроглобуліну на 21,4 % ($p_1 < 0,001$) і 8,3 % ($p_2 < 0,001$), стосовно показників на першу та третю доби дослідження.

Таблиця 2

Динаміка показників інгібіторів протеїназ сироватки крові у щурів
із ГПП на тлі СТД ($M \pm m$)

Групи тварин		Кількість тварин	α -2-макроглобулін, г/л	α -1-інгібітор протеїназ, мкмоль /л
Контрольна група тварин		8	$2,16 \pm 0,03$	$40,1 \pm 0,4$
Тварини із ГПП на тлі СТД	перша доба	8	$1,4 \pm 0,02$ $p < 0,001$	$32,1 \pm 0,3$ $p < 0,001$
	третя доба	8	$1,2 \pm 0,02$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	$24,4 \pm 0,2$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
	сьома доба	8	$1,1 \pm 0,01$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$21,8 \pm 0,2$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Примітка: p – достовірність різниці стосовно таких показників контрольної групи тварин; p_1 – достовірність відмінностей стосовно показників на першу добу розвитку ГПП на тлі СТД; p_2 – достовірність відмінностей стосовно показників на третю добу розвитку ГПП на тлі СТД.				

Маніфестація експериментального ГПП на тлі ЦД супроводжувалася вірогідним зниженням рівня α -1-інгібітора протеїназ в крові протягом усіх термінів дослідження. Встановлено що на першу добу α -1-інгібітор протеїназ знижувався на 19,9 % ($p < 0,001$), на третю добу – на 39,1 % ($p < 0,001$) та на сьому добу – на 45,6 % ($p < 0,001$) порівняно із контрольними значеннями. Найнижчий показник виявлено на сьому добу ($21,8 \pm 0,2$ мкмоль/л) із різницею 32,1 % ($p_1 < 0,001$) та 10,7 % ($p_2 < 0,001$) стосовно значень на першу та третю добу дослідження.

Таким чином маніфестація ГПП на тлі СТД характеризується дисбалансом у системі протеїнази/інгібітори протеїназ, що характеризується наростанням лізису азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену та зниженням продукції їх інгібіторів. На 1 добу дослідження, що відповідала реактивній стадії перитоніту, найвищі значення α -2-макроглобуліну та α -1-інгібітора протеїназ можна трактувати як компенсаторну спробу обмеження протеолітичної активності факторів, що вивільнюються із ушкоджених тканин [11]. Впродовж третьої та сьомої доби (токсемічна та термінальна стадії ГПП) спостерігали виснаження інгібіторного потенціалу, яке зумовлене тим, що за умов супутнього цукрового діабету посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів [12], активація оксидативного стресу, ймовірно, служать

додатковим тригером зниження інгібіторної активності, зокрема α -2-макроглобуліну.

Зменшення активності α -1-інгібітора протеїназ може бути пов'язане із необхідністю інактивації масивної кількості протеолітичних ферментів, джерелом яких є власні клітини організму та мікроорганізми. Причиною зниження активності α -1-інгібітора протеїназ може бути зниження синтетичної функції печінки, яка є основним продуцентом серпінової родини інгібіторів серинових протеїназ. Тому ми спостерігали зниження активності α -2-макроглобуліну, так як сталість пулу α -2-макроглобуліну у системі кровообігу забезпечується переважно гепатоцитами.

Синтез α -1-інгібітора протеїназ здійснюється макрофагами [13]. Зменшення активності α -1-інгібітора протеїназ особливо виражене на 7 добу дослідження підтверджує функціональну неповноцінність макрофагів, що за умов гіперглікемії призводить до зростання числа та вірулентності мікроорганізмів, прогресування ендогенної інтоксикації, розвитку поліорганної недостатності.

Наші результати частково узгоджуються із даними Гринчук Ф. В. та Гринчук А. Ф., які при моделюванні гострого перитоніту в поєднанні із цукровим діабетом вже через 6 годин встановили зростання лізису азоказеїну та азоальбуміну, дисбаланс між ланками протеолізу та ознаки виникнення неконтрольованого протеолізу через 24 год порівняно із тваринами із змодельованим цукровим діабетом [9]. Підґрунтям виявлених відмінностей, на думку дослідників, є зміни функціональної активності протеолітичної системи, які зумовлені впливом ендокринної патології, що створює передумови для порушень механізмів регуляції запалення.

Висновки. Розвиток гострого запалення очеревини на тлі цукрового діабету характеризується порушенням рівноваги системи протеїнази/інгібітори протеїназ у плазмі крові, що підтверджується наростанням лізису азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену та зниження рівнів α -2-макроглобуліну та α -1-інгібітора протеїназ.

Література:

1. Raeeszadeh M., Hosseini S. M. J., Khanmohammadi M. T., Manoochehry S., Rasouli H. R. Comparison of peritoneal lavage with normal saline and normal saline plus antibiotic in acute peritonitis. *Trauma Monthly*. 2017. Vol. 22, No. 5, e58188. DOI: 10.5812/traumamon.58188
2. Ross J. T., Matthay M. A., Harris H. W.. Secondary peritonitis: principles of diagnosis and intervention. *British Medical Journal*. 2018. Vol. 361, k1407. DOI: 10.1136/bmj.k1407
3. Чурпій І. К., Чурпій К. Л., Чурпій І. І. Реабілітація пацієнтів на перитоніт в ранньому післяопераційному періоді. *Art of Medicine*. 2018. № 3(7). С. 203-206.
4. Grotelüschen R., Heidelmann L. M., Lütgehetmann M., Melling N., Reeh M., Ghadban T., Dupree A., Izbecki J. R., Bachmann K. A. Antibiotic sensitivity in correlation to the origin of secondary peritonitis: a single center analysis. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, 1. 18588. DOI:10.1038/s41598-020-73356-x.
5. Owen C. A. Leukocyte cell surface proteinases: regulation of expression, functions, and mechanisms of surface localization. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2008. Vol. 40, No. 6-7. P. 1246-1272. DOI: 10.1016/j.biocel.2008.01.020

6. Zhu M., Zhao B., Wei L., Wang S. Alpha-2-Macroglobulin, a Native and Powerful Proteinase Inhibitor, Prevents Cartilage Degeneration Disease by Inhibiting Majority of Catabolic Enzymes and Cytokines. *Current Molecular Biology Reports*. 2021. No. 7. P. 1-7. doi.org/10.1007/s40610-020-00142-z
7. Bergenfeldt M., Ohlsson K. Protease-antiprotease levels and whole-blood chemiluminescence in acute peritonitis. *Gastroenterologia Japonica*. 1993. Vol. 28, No. 5. P. 687-698. DOI: 10.1007/BF02806350
8. Lashin H. M. S., Nadkarni S., Oggero S., Jones H. R., Knight J. C., Hinds C. J., Perretti M. Microvesicle Subsets in Sepsis Due to Community Acquired Pneumonia Compared to Faecal Peritonitis. *Shock (Augusta, Ga.)*. 2018. – Vol. 49, No. 4. P. 393–401. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000989
9. Grynchuk F.V., Grynchuk A. F. Comparative characteristics of proteolytic activity in case of experimental peritonitis and its development on the background of diabetes mellitus. *International Journal of Endocrinology*. 2019. Vol. 15, No. 3. P. 196-201. DOI: 10.22141/2224-0721.15.3.2019.172104
10. Ramos-Lobo A.M., Buonfiglio D.C., Cipolla-Neto J. Streptozotocin-induced diabetes disrupts the body temperature daily rhythm in rats. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2015. Vol. 7, No. 39. DOI: 10.1186/s13098-015-0035-2
11. Farady C. J., Craik C. S. Mechanisms of macromolecular protease inhibitors. *Chembiochem: a European journal of chemical biology*. 2010. Vol. 11, No. 17. P. 2341-2346. DOI:10.1002/cbic.201000442
12. Dzubanovsky I. Y., Pidruchna S. R., Melnyk N. A., Andreychyn S. M., Vervega B. M., Nychyk N. A. Dynamics of Cytokine Profile Indicators Changes in Animals with Acute Generalized Peritonitis on the Background of Diabetes Mellitus. *Journal of medicine and life*. 2020. Vol. 13, No. 3. P. 404-409. DOI:10.25122/jml-2020-0005
13. Vandooren J., Itoh Y. Alpha-2-Macroglobulin in Inflammation, Immunity and Infections. *Frontiers in immunology*. 2021. 12, 803244. DOI:10.3389/fimmu.2021.803244

References:

1. Raeeszadeh, M., Hosseini, S., Khanmohammadi, M., Manoochehry S., & Rasouli H. R. (2017). Comparison of peritoneal lavage with normal saline and normal saline plus antibiotic in acute peritonitis. *Trauma Monthly*, 22(5), e58188. doi: 10.5812/traumamon.58188
2. Ross, J. T., Matthay, M. A., & Harris, H. W. (2018). Secondary peritonitis: principles of diagnosis and intervention. *British Medical Journal*, 361, k1407. doi: 10.1136/bmj.k1407
3. Churpii, I. K., Churpii, K. L., & Churpii, I. I. (2018). Reabilitatsiia patsientiv na perytonit v rann'omu pisliaooperatsiinomu periodi [Rehabilitation of patients with peritonitis in early postoperative period]. *Art of Medicine*, 3(7), 203–206. [in Ukrainian].
4. Grotelüschen, R., Heidelmann, L. M., Lütgehetmann, M., Melling, N., Reeh, M., Ghadban, T., Dupree, A., Izbicki, J. R., & Bachmann, K. A. (2020). Antibiotic sensitivity in correlation to the origin of secondary peritonitis: a single center analysis. *Scientific Reports*, 10(1), 18588. doi:10.1038/s41598-020-73356-x.
5. Owen C. A. (2008). Leukocyte cell surface proteinases: regulation of expression, functions, and mechanisms of surface localization. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 40(6-7), 1246–1272. https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.01.020
6. Zhu, M., Zhao, B., Wei, L. & Wang, S. (2021). alpha-2-Macroglobulin, a Native and Powerful Proteinase Inhibitor, Prevents Cartilage Degeneration Disease by Inhibiting Majority of Catabolic Enzymes and Cytokines. *Current Molecular Biology Reports*, 7, 1–7. doi.org/10.1007/s40610-020-00142-z
7. Bergenfeldt, M., & Ohlsson, K. (1993). Protease-antiprotease levels and whole-blood chemiluminescence in acute peritonitis. *Gastroenterologia Japonica*, 28(5), 687–698. https://doi.org/10.1007/BF02806350

8. Lashin, H. M. S., Nadkarni, S., Oggero, S., Jones, H. R., Knight, J. C., Hinds, C. J., & Perretti, M. (2018). Microvesicle Subsets in Sepsis Due to Community Acquired Pneumonia Compared to Faecal Peritonitis. *Shock (Augusta, Ga.)*, 49(4), 393–401. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000989>
9. Grynchuk, F.V., & Grynchuk A. F. (2019). Comparative characteristics of proteolytic activity in case of experimental peritonitis and its development on the background of diabetes mellitus. *International Journal of Endocrinology*, 15(3), 196-201. doi: 10.22141/2224-0721.15.3.2019.172104
10. Ramos-Lobo, A.M., Buonfiglio, D.C., & Cipolla-Neto, J. (2015). Streptozotocin-induced diabetes disrupts the body temperature daily rhythm in rats. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. Vol. 7, 39. <https://doi.org/10.1186/s13098-015-0035-2>
11. Farady, C. J., & Craik, C. S. (2010). Mechanisms of macromolecular protease inhibitors. *Chembiochem: a European journal of chemical biology*, 11(17), 2341–2346. <https://doi.org/10.1002/cbic.201000442>
12. Dzubanovsky, I. Y., Pidruchna, S. R., Melnyk, N. A., Andreychyn, S. M., Vervega, B. M., & Nychyk, N. A. (2020). Dynamics of Cytokine Profile Indicators Changes in Animals with Acute Generalized Peritonitis on the Background of Diabetes Mellitus. *Journal of medicine and life*, 13(3), 404–409. <https://doi.org/10.25122/jml-2020-0005>
13. Vandooren, J., & Itoh, Y. (2021). Alpha-2-Macroglobulin in Inflammation, Immunity and Infections. *Frontiers in immunology*, 12, 803244. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.803244>