Науковий вісник Ужгородського університету
Серія Біологія, Випуск 30, 2011: 201–203
© Пономаренко Л. А. та ін., 2011

УДК 616.33-002.44-018: 615-004.14/591.2

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ КОРЕКТОРІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ТВАРИН З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ ЕРОЗИВНО-ВИРАЗКОВОЮ ПАТОЛОГІЄЮ

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Пономаренко О. А.

Ефективність застосування коректорів антиоксидантного захисту у тварин з експериментальною ерозивно-виразковою патологією. — Л. А. Пономаренко, О. А. Лихолат, О. А. Пономаренко. — *Оцінено вплив L-аргініна-L-глутамата та вихрового імпульсного магнітного поля (ВІМП) на кров щурів з ерозивно-виразковими ураженнями гастродуоденальної зони. Встановлено, що найбільш виражений антиоксидантний ефект спостерігається при поєднаному застосуванні L-аргініна-L-глутамата та ВІМП. Вірогідно, магнітне поле, впливаючи на проникність клітинних мембран, сприяє кращому проникненню L-аргініна-L-глутамата через мембранні структури, посилюючи антиоксидантні властивості фармакологічного препарату.*

Ключові слова: *ерозивно-виразкова патологія, антиоксидантний захист, магнітне поле, L-аргінін-L-глутамат.*

Адреса: *Академія митної служби України, вул. Дзержинського, 2/4, Дніпропетровськ, 49000, e-mail: Lykholat2010@ukr.net*

The efficiency of antioxidant application in rats with experimental gastric ulceration. — L. Ponomarenko, O. Lykholat, A. Ponomarenko. — *The influence of L-arginin-L-glutamat and vortical impact magnetic field prooxidant-antioxidant systems of the rats with erosive-ulcer pathology in gastroduodenal zone was estimated. Vortical impact magnetic field with administration of L-arginin-L-glutamat influence combination induced most expressed antioxidant effect. Probably, the magnetic field has an influence on permeability of cellular membranes and promotes the best penetration of L-arginin-L-glutamat through membrane structures that strengthens the antioxidant properties of this medicinal preparation.*

Key words: *gastric ulceration, prooxidant-antioxidant systems, magnetic field, L-arginin-L-glutamat.*

Address: *Academy of Customs Service of Ukraine, Dzergynsky Str., 2/4, Dniepropetrovsk, 49000, e-mail: Lykholat2010@ukr.net*

Вступ

Оксидативний стрес, що виникає внаслідок дисбалансу між інтенсивністю вільнорадикальних процесів та функціональною активністю антиоксидантної системи (АОС), є наслідком або причиною виникнення деяких патологічних станів організму. Зазначені зміни можуть бути ключовими патогенетичними факторами для цілої низки захворювань шлунково-кишкового тракту, зокрема, кислотозалежних, до яких належать виразкова та гастроезофагеальна рефлюксна хвороби [8, 12].

Надмірна активація процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), а також зміни антиоксидантного захисту (АОЗ), що призводять до різноманітних порушень тканинного метаболізму, стали теоретичним обґрунтуванням для застосування при лікуванні даних хвороб препаратів, спрямованих на нормалізацію окислювальних процесів. Проте, незважаючи на значну кількість сучасних фармакологічних засобів з антиоксидантними властивостями, не завжди їх використання дозволяє отримати бажаний результат. Це пояснює пошук оптимальних методів впливу, які б мали здатність відновлювати порушений прооксидантно-антиоксидантний баланс [3, 11]. Перспективними в цій галузі є препарати на основі амінокислот, що мають найвищу біодоступність та засвоєння. До зазначеної групи належить сіль L-аргініна-L-глутамата – фармакологічного засобу, відомого своєю гепатопротекторною, антитоксичною та антиокислювальною дією [1]. Крім того, методом вибору може бути магнітотерапія. Відомі позитивні результати при використанні дії магнітних полів (МП), на систему АОЗ при лікуванні кислотозалежних захворювань [6].

Доведено, що розвиток ерозивно-виразкових уражень (ЕВУ) верхнього відділу шлунково-кишкового тракту супроводжується порушенням ліпопероксидного гомеостазу не тільки в зоні ульцерогенезу, а й крові [10, 13]. Тому, оцінити ефективність проведеної терапії можливо, використовуючи в якості об'єкта дослідження формові елементи та плазму крові [4].

Мета дослідження – вивчити вплив L-аргініна-L-глутамата та вихрового імпульсного магнітного поля на АОС крові щурів з ерозивно-виразковими ураженнями гастродуоденальної зони.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 200–250 г. Всі тварини були розділені на 5 груп. І-у контрольну групу склали щури, що внутрішньошлунково отримували фізіологічний розчин. В ІІ групу ввійшли тварини, яким модулювали ЕВУ шлунка шляхом інтрагастрального введення медичної жовчі (1 мл/100 г) впродовж 7 днів. ІІІ група складалась з щурів з ЕВУ, які одночасно з моделюванням патологічного стану отримували ін'єкції L-аргініна-L-глутамата (1мл/100 г). IV група – тварини з ЕВУ, що впродовж 7 діб експерименту зазнавали впливу вихрового імпульсного магнітного поля (ВІМП) з наступними характеристиками: частота модуляції – 75–85 Гц, радіальна скла-

дова – 5–10 мТл, тангенціальна складова – 0,5–15 мТл, експозиція – 15 хв. Щури V групи, поряд з моделюванням ЕВУ, отримували L-аргініна-L-глутамат та аплікації ВІМП. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під кетаміновим наркозом. Процедури в експерименті виконували згідно Гельсінської декларації про гуманне відношення до тварин.

В крові щурів визначали вміст ТБК-активних продуктів (ТБКАП) [2], відновленого глутатіону (ВГ) [5], глутатіонпероксидази (ГПО) [15], глутатіонредуктази (ГР), каталази (Кат) [2], супероксиддисмутази (СОД) [9].

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики.

Результати досліджень та їх обговорення

Виходячи з результатів досліджень, моделювання ЕВУ гастродуоденальної зони (ГДЗ) супроводжувалось порушенням балансу між інтенсивністю вільно-радикальних процесів та функціональним статусом АОС в крові тварин II групи. Про це, зокрема, свідчить зростання кількості ТБКАП в плазмі на 94 % ($p<0,05$), еритроцитах – на 63% ($p<0,05$) відносно показників групи контролю (табл.).

Таблиця. Показники оксидантного стану крові щурів, що піддавалися впливу L-аргініна-L-глутамата та вихрового імпульсного магнітного поля

Показники		I група (контроль) (n=6)	II група (n=6)	III група (n=6)	IV група (n=6)	V група (n=6)
ТБКАП, нМоль/мл	плазма	2,62±0,12	5,1±0,32*	3,99±0,26*^	2,76±0,11^	2,02±0,13*^
	еритроцити	14,35±0,98	23,42±0,85*	16,56±0,87^	12,94±0,85^	10,95±0,65*^
Каталаза, мМольH_2O_2/гНв•хв		3,58±0,14	1,33±0,12*	3,26±0,07^	2,40±0,03*^	3,45±0,05^
ГПО, мМольH_2O_2/гНв•хв		0,096±0,004	0,139±0,005*	0,156±0,004*^	0,0805±0,006^	0,16±0,004*^
ГР, нМольНаДРН/гНв•хв		0,39±0,01	0,41±0,01	0,49±0,013*^	0,22±0,002*^	0,25±0,004*^
ВГ, мМоль/л		2,36±0,036	1,54±0,07*	1,61±0,045*	2,07±0,047*^	2,99±0,11*^
СОД, ум. од.		0,037±0,003	0,047±0,005	0,081±0,008*^	0,057±0,002*^	0,12±0,005*^

Примітка: * – $p<0,05$, вірогідність відмінностей показників між контрольною та дослідними групами; ^ p – $p<0,05$, вірогідність відмінностей показників між 2-ю та дослідними групами.

Зазначені зміни відбувалися на тлі інгібіції антиперекисного ензиму Кат в 2,7 рази ($p<0,05$) за одночасної активації іншого антиоксидантного ферменту ГПО на 45% ($p<0,05$) відповідно до аналогічних контрольних індексів. Слід відмітити, що зниження пулу ВГ на 35% ($p<0,05$) не компенсувалося активацією ГР-ензиму, за участі якого здійснюється відновлення окисненого глутатіону.

Застосування L-аргініна-L-глутамата у щурів III групи призводило до активації ферментів декількох ланок захисту від реактивних метаболітів кисню. Так, відбувалось зростання активності СОД на 72% ($p<0,05$), Кат – на 145% ($p<0,05$), ГПО – на 12% ($p<0,05$), ГР – на 19% ($p<0,05$) в порівнянні з відповідними даними тварин II групи. При цьому рівень ВГ мав лише тенденцію до підвищення та залишався нижчим за контрольні показники на 32% ($p<0,05$). Ін'єкції L-аргініна-L-глутамата сприяли гальмуванню інтенсивних процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), внаслідок чого кількість ТБКАП плазми у тварин III групи була зменшена на 27% ($p<0,05$), еритроцитів – на 30% ($p<0,05$) по відношенню до відповідних індексів щурів з ЕВУ (II група).

Аплікації ВІМП різноспрямовано впливали на складові АОС щурів IV групи. Спостерігалася вірогідна активація металзалежних ферментів, які знешкоджують вільні радикали з наступним розпадом утворених перекисів водню: СОД – на 21% ($p<0,05$), Кат – на 80% ($p<0,05$). В той же час, ензими, що входять до складу системи глутатіону, були інгібовані: ГПО – на 63% ($p<0,05$), ГР – на 47% ($p<0,05$) відповідно до індексів тварин II групи. Пул ВГ збільшувався на 34% ($p<0,05$) в порівнянні з показниками тварин з моделюванням ЕВУ, але не досягав контрольних даних. Під дією ВІМП у щурів IV групи значно зменшувалась активність ПОЛ: кількість ТБКАП майже досягала відповідних показників групи контролю.

Поєднана дія L-аргініна-L-глутамата та ВІМП у тварин 5-ї групи дозволила нормалізувати роботу Кат, значно активувати СОД – на 255% ($p<0,05$) відносно індексів групи тварин з ЕВУ, яких не піддавали терапевтичним заходам. Одночасно, активність іншого антиперекисного ензиму ГПО була збільшена на 15 % ($p<0,05$). Рівень ВГ в порівнянні з показниками щурів II групи зростав на 94% ($p<0,05$) та був більшим за відповідні контрольні індекси на 26% ($p<0,05$). Слід відмітити, що активність ферменту, залученого до тіолдісульфідного обміну, – ГР, була зменшена на 39% ($p<0,05$) щодо даних II групи. Поєднаний вплив L-аргініна-L-глутамата та ВІМП у щурів V групи супроводжувався зменшенням кількості ТБКАП плазми на 60% ($p<0,05$), ТБКАП еритроцитів – на 53% ($p<0,05$) відповідно до аналогічних показників тварин з ЕВУ.

Отже, аналіз отриманих результатів щодо оцінки антиоксидантних властивостей L-аргініна-L-глутамата та ВІМП на моделі ерозивно-виразкових уражень гастродуоденальної зони щурів свідчить, що найбільш збалансоване, на наш погляд, співвідношення процесів ПОЛ та стану АОЗ в крові дослідних тварин спостерігалось при поєднаній дії зазначених фармакологічного та фізіотерапевтичного чинників.

Антиоксидантна активність L-аргініна-L-глутамата пов'язана зі специфічними властивостями амінокислот, що входять до складу препарату. Так, глутамінова кислота приймає активну участь в роботі системи глутатіону, сприяє активації ГПО. Крім того, глутамінова кислота і

деякі її метаболіти, змінюючи активність фосфорилази A_2, сприяють видаленню токсичних продуктів переокиснення жирнокислотних залишків фосфоліпідів. Аргінін є інгібітором як початкових, так і кінцевих стадій ПОЛ через здатність вступати в реакцію з супероксид-аніоном та завдяки можливості перехоплювати синглетний кисень та гідроксильний радикал [1].

Щодо впливу ВІМП, натепер визнаною є теорія реалізації біологічної дії МП через хімічні реакції, що відбуваються за вільнорадикальним механізмом. За перебігу даних реакцій, за законами квантової механіки, здійснюються електронні переходи, імовірність яких під впливом МП може мати деякі зміни. В результаті змінюється взаємодія різних типів радикалів, що, в свою чергу, призводить до орієнтаційної перебудови рідинокристалічних структур та позначається на проникності біологічних мембран та фізіологічному стані клітин. Крім того, біологічну активність МП пов'язують з можливістю підвищувати іонну активність в тканинах, що є передумовою стимуляції клітинного метаболізму [7]. В основі впливу МП на локальні зміни концентрації водневих іонів, що результуються у посилення водневих зв'язків, лежить тунельний перенос протона за естафетним механізмом [14]. Можливо, цим пояснюється збільшення пулу ВГ у тварин IV та V груп на тлі інгібування ензиму ГР.

Поєднана дія L-аргініна-L-глутамата та ВІМП дозволила суттєво збільшити активність СОД у тварин V групи в порівнянні з аналогічним показником щурів, що зазнали ізольованого впливу досліджуваних коректорів АОЗ. Це, певно, пов'язано зі взаємною підсилюючою дією властивостей, що притаманні зазначеним фармакологічному та фізіотерапевтичному чинникам. Так, активація СОД L-аргініном-L-глутаматом здійснюється через NO-залежні механізми завдяки вмісту аргініну, тоді як ВІМП підвищує активність даного ензиму, впливаючи на перехідні метали в активному центрі. Найбільша ефективність використання поєднаної дії L-аргініна-L-глутамата та ВІМП у тварин V групи також підтверджується активацією ГПО, що призводить до знешкодження значної кількості перекису водню, який утворюється в результаті посиленої роботи СОД. Слід відмітити, що за ізольованого впливу ВІМП даний феномен не спостерігався.

Висновки

1. Моделювання ерозивно-виразкових уражень гастродуоденальної зони у щурів супроводжувалось розбалансуванням у функціонуванні систем антиоксидантного захисту та інтенсифікацією процесів ПОЛ в крові дослідних тварин.

2. Застосування L-аргініна-L-глутамата призводило до активації антиперекисних ензимів крові, підвищення пул відновленого глутатіону, але не відмічено нормалізації стану вільнорадикальних процесів у щурів експериментальною ерозивно-виразковою патологією.

3. Аплікації вихрового імпульсного магнітного поля тваринам з модельованою патологією гастродуоденальної зони результувалися в інгібування процесів ПОЛ в крові дослідних щурів за одночасної часткової дезактивації ензимів системи глутатіону на тлі зростання кількості відновленого глутатіону.

4. При поєднаній дії L-аргініна-L-глутамату та вихрового імпульсного магнітного поля в крові дослідних щурів з ерозивно-виразковими ураженнями гастродуоденальної зони мали місце активація ензимів антирадикального, антиперекисного захисту, збільшення рівня відновленого глутатіону на тлі пригнічення активності глутатіон-редуктази та зменшення інтенсивності процесів ПОЛ.

1. *Бабак О.Я.* Глутаргин – фармакологическое действие и клиническое применение / Бабак О.Я., Фролов В.М., Харченко Н.В. – Х: Элтон-2, 2005. – 45 с.

2. *Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС*:[метод.рекомендації]. – Київ, 1999. – 25 с.

3. *Бурчинський С.* Нові можливості антиоксидантної фармакотерапії / С. Бурчинський // Вісн. фармакол. та фармації. – 2005. – № 2. – С. 25–28.

4. *Васильева Е.М.* Биохимические особенности эритроцита. Влияние патологии (обзор литературы) / Е.М. Васильева // Биомед. химия. – 2005. – Т. 51, вып. 2. – С. 118–126.

5. *Горячковский А.М.* Клиническая биохимия / Горячковский А.М. – О: Астропринт, 1998.– 608 с.

6. *Лыков А.А.* Магнитотерапия в комплексном лечении язвенной болезни / А.А. Лыков // Вестник физиотерапии и курортологии. – 2004. – № 3. – С. 54–56.

7. *Мачерет Є.Л.* Аналіз особливостей впливу магнітного поля / Є.Л. Мачерет, Н.К. Мурашко // Лік. справа. – 2003. – №7. – С. 17– 19.

8. *Нейко Є.М.* До питання етіології і патогенезу виразкової хвороби / Є.М. Нейко, Н.Р. Матковська // Гал. лік. вісник. – 2006. – Т. 13, № 1. – С. 122–128.

9. *Переслегина И.А.* Активность антиоксидантных ферментов слюны у здоровых детей / И.А. Переслегина // Лабораторное дело. – 1989. – № 11. – С.20–23.

10. *Процеси пероксидації ліпідів у плазмі крові щурів за умов експериментальної виразки шлунка* / В.А. Ковальова, К.О. Дворщенко, К.В. Лукашкова [та ін.] // Мед. хімія. – 2006. – Т. 8, № 4. – С. 124–126.

11. *Скляров О.Я.* Роль вітамінів Е та С в антиоксидантних процесах органів травної системи / О.Я. Скляров, В.С. Журомський // Мед. хімія. – 2006. – Т. 8, № 3. – С. 115–117.

12. *Стратегія і тактика антиоксидантного захисту в клініці внутрішніх хвороб* / О.П. Єлісєєва, М.Ф. Тимочко, О.О. Абрагамович [та ін.] // Укр. мед. часопис. – 2003. – № 3(35). – С. 92–99.

13. *Федів О.І.* Пероксидне окислення ліпідів, структурно-функціональні властивості еритроцитів, фібролітична та протеолітична активність плазми крові у хворих на виразкову хворобу / О.І. Федів, Л.В. Фартушняк // Гал. лік. вісник. – 2001. – Т. 8, № 1. – С. 111–113.

14. Nihal B. The effect of magnetic field on the activity of superoxide dismutase / B. Nihal, C. Ozge, A. Cimen // J. of Cell and Molecular Biology. – 2006. – № 5. – P. 57–62.

15. *Olineseu R.* Influense of hemoproteins on glutationperoxidase activity / R. Olineseu, S. Nita // Rev. Roum. Biochem. – 1973 .– Vol. 247.– P. 3100–3107.

Отримано: 29 жовтня 2010 р.
Прийнято до друку: 25 січня 2011 р.