

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ L-АРГІНІНУ НА ОКСИДАТИВНІ ПРОЦЕСИ, ВМІСТ ОКСИДУ АЗОТУ ТА ФАКТОРИ ІМУННОГО ЗАХИСТУ В КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КОЛІТУ

*Показано, що за умов експериментального оцтового коліту в крові щурів спостерігаються зниження вмісту оксиду азоту, активація процесів перекисного окиснення ліпідів, виснаження системи антиоксидантного захисту, підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів та прозапальних цитокінів. Виявлено, що L-аргінін позитивно впливає на перебіг захворювання, відновлює функцію судинного ендотелію, сприяє нормалізації процесів ліпопероксидації, антиоксидантного захисту та гуморальних факторів імунітету.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** оцтовий коліт, оксид азоту, циркулюючі імунні комплекси, прозапальні цитокіни, L-аргінін.

**ВСТУП.** Виразковий коліт (ВК) є одним з найбільш розповсюджених гастроентерологічних захворювань, його етіологія і патогенез дотепер залишаються до кінця не з'ясованими, а лікування часто малоефективне [1].

У виникненні коліту, поряд з явищами дисбактеріозу, кишковою дисмоторикою, важлива роль відводиться порушенням факторів імунного захисту, дисбалансу процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – антиоксидантного захисту (АОЗ) та порушенням мікроциркуляції.

Серед патогенетичних факторів ВК важливого значення надають імунопатологічним реакціям [2]. Відомо, що між показниками імунітету і біохімічними процесами є патогенетичний зв'язок, а саме активація процесів ПОЛ та пригнічення системи АОЗ значно погіршують стан системи імунного захисту організму [4].

Отже, недостатнє вивчення механізмів виникнення та розвитку ВК робить актуальними подальше дослідження аспектів патогенезу і пошук ефективних лікарських засобів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на статевозрілих безпородних білих щурах-самцях середньою масою 150–200 г відповідно до прийнятих етичних норм роботи з лабораторними тваринами. Виразковий коліт моделювали шляхом перректального введення 1 мл 4 % оцтової кислоти. Дослі-

© О. П. Хаврона, 2011.

дження проводили на 2-й день розвитку патологічного стану, декапітацію виконували на тлі уретанового знеболювання. Всіх тварин поділили на три групи: контрольну групу склали 15 інтактних щурів; до 2-ї групи ввійшли 20 щурів з модельованим оцтовим колітом; до 3-ї – 15 тварин, яким на фоні коліту вводили L-аргінін у дозі 100 мг/кг. Об'єктом дослідження була сироватка крові. Вміст стабільного метаболіту оксиду азоту (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) визначали за методом L. C. Green, A. V. David [10]. Інтенсивність процесів ліпопероксидації оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів за методом Р. А. Тімірбулатова і Є. І. Селезньова [8]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за методом С. Чеварі [9], каталази – за методом М. А. Королюка [7], вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) – за методом Л. Є. Лаповець та Б. Д. Луцик [6], рівень ІЛ-1β – за допомогою ІФА. Одержані результати статистично опрацьовано за t-критерієм Стьюдента за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 8.0.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати досліджень показали зниження вмісту NO у 2,8 раза порівняно з контрольною групою (табл. 1), що свідчить про порушення функції судинного ендотелію з пригніченням механізмів вазодилатації. За літературними даними [3, 12], недостатнє утворення NO сприяє порушенню мото-

рики шлунково-кишкового тракту та розвитку в ньому запального процесу.

Під час аналізу показників ПОЛ у крові при оцтовому коліті було виявлено підвищений у 2,2 раза рівень ТБК-активних продуктів. Підвищення їх у крові призводило до зміни структури біологічних мембран, збільшення їх проникності та в'язкості, посилення кишкової моторики та порушення процесів травлення в товстій кишці [11]. Накопичення шкідливих продуктів ПОЛ супроводжувалося пригніченням активності системи АОЗ у вигляді зниженої активності СОД – у 2,3 раза, каталази – в 1,7 раза, що можна розцінити як захисну реакцію організму на підвищення вмісту продуктів ПОЛ.

Посилення процесів ліпопероксидації призводило до порушення функції імунної системи, що проявлялось збільшенням кількості патогенних ЦІК у 2,9 раза. Відомо, що зміни в складі клітинних мембран внаслідок негатив-

ного впливу підвищеної кількості пероксидів ліпідів викликали порушення функції імунної системи. ЦІК здатні уражати клітинні біомембрани, що призводить до оксидативного стресу [5]. Розвиток коліту супроводжувався значним збільшенням у сироватці крові рівня прозапального цитокіну – ІЛ-1 $\beta$  у 2,5 раза. Підвищуючи експресію молекул на поверхні імунних клітин і судинного ендотелію, ІЛ-1 $\beta$  здатний активувати хемотаксис і адгезію лейкоцитів, що відіграє важливу роль у механізмах пошкодження слизової оболонки товстої кишки при виразковому коліті [2, 13].

Застосування L-аргініну позитивно впливало на процеси ПОЛ–АОЗ. Зменшувався вміст ТБК-активних продуктів – у 1,6 раза, зростала активність СОД – в 1,8 раза, каталази – в 1,2 раза. Вміст ЦІК знизився у 2,3 раза, а рівень ІЛ-1 $\beta$  – у 2 рази (всі дані при лікуванні відносно групи тварин з модельованим колітом).

Таблиця 1 – Активність процесів ПОЛ–АОЗ, вміст NO та факторів імунного захисту

Досліджуваний показник	Контроль	Оцтовий коліт	Оцтовий коліт+L-аргінін
ТБК-реагуючі сполуки, мкмоль/мл	12,01 $\pm$ 0,40	26,42 $\pm$ 0,15**	16,51 $\pm$ 0,29*
СОД, мкмоль/хв·мл	3,21 $\pm$ 0,69	1,39 $\pm$ 0,09*	2,50 $\pm$ 0,12*
Каталаза, мкмоль/хв·мл	84,35 $\pm$ 3,99	49,62 $\pm$ 4,15*	59,54 $\pm$ 2,34*
NO $_2^-$ , мкмоль/л	5,84 $\pm$ 0,36	2,08 $\pm$ 0,15*	4,57 $\pm$ 0,24*
ЦІК, ООГ/мл	0,569 $\pm$ 0,114	1,650 $\pm$ 0,090*	0,717 $\pm$ 0,121*
ІЛ-1 $\beta$ , пг/мл	15,6 $\pm$ 0,81	39,04 $\pm$ 0,57**	19,52 $\pm$ 0,24*

Примітка. \* – p>0,05; \*\* – p>0,001.

**ВИСНОВКИ.** При експериментальному коліті у крові щурів виявлено порушення в системі ПОЛ–АОЗ, які свідчать про біохімічні зміни на клітинному рівні, деформацію та пошкодження клітинних біомембран і судин, що збільшує їх проникність з подальшим порушенням клітинного травлення та посиленням запального процесу при коліті. Відзначене підви-

щення рівня патогенних ЦІК та ІЛ-1 $\beta$  може сприяти посиленню судинного тону, погіршенню мікроциркуляції, гіпоксії та розвитку оксидативного стресу. Спостерігали позитивний вплив L-аргініну на досліджувані процеси, що вказує на можливість застосування цього препарату в комплексній терапії коліту.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белоусова Е. А. Язвенный колит и болезнь Крона / Е. А. Белоусова. – М. : Триада, 2002. – 127 с.
2. Береза Н. М. Цитокини і їх застосування у лікуванні неспецифічного виразкового коліту / Н. М. Береза, О. О. Крилова // Сучасна гастроентерол. і гепатол. – 2000. – № 2. – С. 39–44.
3. Гріднева С. В. Роль окису азоту і процесів ліпопероксидації у розвитку хронічного невиразкового коліту / С. В. Гріднева // Сучасна гастроентерол. – 2003. – № 2 (12). – С. 43–46.
4. Звягинцева Т. Д. Коррекция нарушенной антиокислительного гомеостаза и иммунной реактив-

ности организма у больных хроническим неспецифическим колитом / Т. Д. Звягинцева, С. В. Гріднева // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. – 2003. – № 1. – С. 158.

5. Крилова О. О. Зміни імунного статусу при хворобі Крона і неспецифічному виразковому коліті та ефективність імунокорекції / О. О. Крилова // Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім. Шупика. – К., 2003. – Вип. 12. – С. 327–334.

6. Лаповець Л. Є. Лабораторна імунологія / Л. Є. Лаповець, Б. Д. Луцик. – К., 2004. – С. 132.

7. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

8. Тимирбулатов Р. А. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение / Р. А. Тимирбулатов, Е. И. Селезнев // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209–211.

9. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // Лаб. дело. – 1991. – № 10.

10. Green L. C. Analysis of nitrate, nitrite and (1515) nitrate in biological fluids / L. C. Green, A. V. David // Anal. Biochem. – 1982. – **126**. – P.131–138.

11. Kruidenier L. Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease-Radicals or ridiculous / L. Kruidenier, H. W. Verspaget // Alimentary Pharmacology and Therapeutics. – 2002. – **16**, № 12. – P. 1997–2015.

12. Reifen R. Iron supplementation may aggravate inflammatory status of colitis in a rat model / R. Reifen, Z. Matas, L. Zeidel // Digestive Diseases and Sciences. – 2000. – **9**, № 45. – P.1820–1827.

13. Van Bodegraven A. A. Baak Hemostatic imbalance in active and quiescent ulcerative colitis / A. A. Van Bodegraven, M. Schoorl, J. P. A // American J. of Gastroenterology. – 2001. – **96**, № 2. – P. 487–493.

**О. П. Хаврона**

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ L-АРГИНИНА НА ОКСИДАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ, СОДЕРЖАНИЕ ОКСИДА АЗОТА И ФАКТОРЫ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ В КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИТЕ

### Резюме

*Показано, что при экспериментальном уксусном колите в крови крыс наблюдаются снижение содержания оксида азота, активация процессов липопероксидации, истощение системы антиоксидантной защиты, повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов и провоспалительных цитокинов. Выявлено, что L-аргинин положительно влияет на течение заболевания, восстанавливает функцию сосудистого эндотелия, способствует нормализации процессов липопероксидации, антиоксидантной защиты и гуморальных факторов иммунитета.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** уксусный колит, оксид азота, циркулирующие иммунные комплексы, провоспалительные цитокины, L-аргинин.

**O. P. Khavrona**

DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

## THE EVALUATION OF THE INFLUENCE OF L-ARGININE ON OXIDATIVE PROCESSES, NITRIC OXIDE CONTENT AND FACTORS OF IMMUNE DEFENSE IN BLOOD OF THE RATS UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL COLITIS

### Summary

*Under conditions of experimental acetic acid-induced colitis in rats we showed the decreased content of nitric oxide in blood, activation of the processes of peroxide oxidation of lipids, the decrease of the antioxidative defense system, increase of the level of the immune circulating complexes and proinflammatory cytokins. We evaluated that L-Arginine has a positive influence on the course of the disease, renews the function of the vascular endothelium, induces the normalisation of lipoperoxidation processes and antioxidative defense as well as the factors of the humoral immunity.*

**KEY WORDS:** acetic acid-induced colitis, nitric oxide, immune circulating complexes, proinflammatory cytokins, L-Arginine.

Отримано 11.10.11

Адреса для листування: О. П. Хаврона, вул. Сорочинська, 8, кв. 40, Львів, 79058, Україна.