

Н. О. Салига

Інститут біології тварин НААН України, м. Львів

ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ, УРАЖЕНИХ НІТРИТОМ НАТРІЮ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ L-ГЛУТАМІНОВОЮ КИСЛОТОЮ

Досліджено вплив різних доз L-глутамінової кислоти на активність антиоксидантних ензимів та продуктів пероксидного окиснення за дії нітриту натрію. Показано, що введення нітриту натрію приводить до активації вільнорадикальних процесів в організмі щурів та зниження активності антиоксидантних ензимів. Встановлено, що введення тваринам L-глутамінової кислоти призводить до зменшення токсичної дії нітриту натрію.

Ключові слова: щури, L-глутамінова кислота, нітрит натрію, антиоксидантна система, інтоксикація

Робота є фрагментом НДР "Вивчити механізми субстратної регуляції метаболічних процесів у тварин в різні періоди онтогенезу залежно від рівня живлення", № держреєстрації 0111U006159.

Токсичне накопичення нітратів та нітритів у сільськогосподарській продукції та шкідливий їх вплив є важливою проблемою сьогодення. Широке використання токсикантів привело до забруднення навколишнього середовища, повітря, ґрунту, води та їжі, яку ми споживаємо, і як наслідок, зростання захворювань у людей та тварин [10]. Основним джерелом поступання нітратів і нітритів в навколишнє середовище є зростаюче застосування азотних добрив, спалення побутових відходів та ін. Найбільша небезпека підвищеного вмісту нітратів в організмі полягає в тому, що вони в результаті біохімічних процесів переходять в N-нітрозосполуки, які мають канцерогенну і мутагенну дію. Нітрити здатні окислювати двовалентний Ферум у трьохвалентний. При цьому утворюється метгемоглобін, що не здатний переносити Оксиген до тканин та органів. Деструктивний вплив нітритів та нітратів на організм зумовлений ініціацією вільнорадикальних процесів, що призводить до порушення клітинних мембран, зниження активності імунної системи, і, відповідно, до різних патологічних станів людини та тварин.

Відомо, що ряд амінокислот, зокрема, L-глутамінова кислота (L-Glu) володіють вираженою антиоксидантною, мембраностабілізуючою та антигіпоксичною активністю [6, 11]. Накопичується все більше фактів про те, що відновлення рівноваги між про- та антиоксидантами можна здійснити введенням в організм, який піддається впливу ксенобіотиків та інших негативних чинників, ряду амінокислот-адаптогенів, зокрема, L-глутамінової кислоти [5, 8].

Метою роботи було у дослідженні впливу різних доз L-глутамінової кислоти на активність окремих антиоксидантних ензимів у крові щурів за умов введення нітриту натрію.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проведено на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200-220 г. Тваринам згодовували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Під час проведення досліджень на тваринах дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Було сформовано 4 групи тварин-аналогів (3 дослідних і 1 контрольна). Тваринам першої дослідної групи вводили внутрішньоочеревинно одноразово нітрит натрію з розрахунку 50 мг/кг, тваринам другої дослідної групи - нітрит натрію з розрахунку 50 мг/кг, після чого розчин L-Glu у дозі 750 мг/кг. Тваринам третьої дослідної групи вводили нітрит натрію з розрахунку 50 мг/кг, після чого розчин L-Glu у дозі 500 мг/кг. Щурам контрольної групи вводили відповідну кількість фізрозчину. Через добу тварин всіх груп за анестезії ефіром декапітували. В еритроцитах крові визначали активність супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1) [7]; активність каталази (КФ 1.11.1.6) [2]; активність глутатіонпероксидази (ГПО) (КФ 1.11.1.9) [1]; вміст відновленого глутатіону [9]. У плазмі крові визначали вміст ТБК-активних продуктів [3], концентрацію гідропероксидів ліпідів [4]. Одержані цифрові дані обробляли статистично. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Застосування нітриту натрію викликає інтенсифікацію процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) в організмі людини та тварин і зниження активності системи антиоксидантного захисту. Значну роль в інгібуванні процесів вільнорадикального окиснення відіграє супероксиддисмутаза, оскільки цей ензим забезпечує дисмутацію супероксидного радикала, що є попередником гідроксид радикала. Як показали результати досліджень (рис.1), активність СОД в еритроцитах крові тварин першої та третьої

дослідних груп практично не відрізнялась від контролю. Проте, мало місце підвищення активності цього ензиму у тварин другої дослідної групи на 16,5% стосовно тварин контрольної групи.

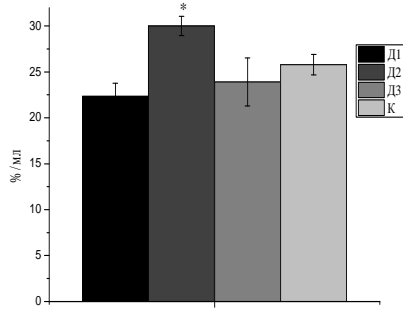


Рис. 1 Активність СОД в еритроцитах крові щурів
 * в цьому і наст. рис.:* - вірогідно ($p < 0,05$) відносно контролю; ^ - вірогідно ($p < 0,05$) відносно Д1.

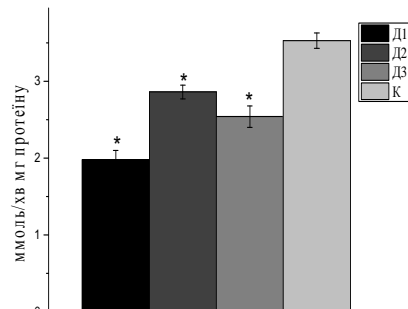


Рис. 2 Активність каталази в еритроцитах крові щурів

Каталазна активність вірогідно знижувалась у еритроцитах тварин усіх дослідних груп відповідно на 56%, 19% та 28,1% порівняно до контролю (рис.2). Ймовірно, що збільшення вільних радикалів при інтоксикації нітритом натрію приводить до незворотнього інгібування каталази у тварин дослідних груп. Слід уточнити, що у щурів, які додатково отримували L-глутамінову кислоту рівень інгібування був меншим.

При дослідженні вмісту продуктів пероксидного окиснення спостерігали зростання інтенсивності ПОЛ у тварин, що зазнавали нітритної інтоксикації. Активація ПОЛ може призводити до дезорганізації структури біологічних мембран, пригнічення активності ензимів, пошкодження ДНК, РНК, оскільки гідропероксиди ліпідів та ТБК-активні продукти, які утворюються в процесі розвитку ПОЛ є мутагенами і володіють вираженою цитотоксичністю.

Згідно з результатами наших досліджень (рис. 3, 4) вміст гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів зростав у тварин першої дослідної групи, яка зазнавала впливу нітриту натрію відповідно у 2,2 та 1,53 раза порівняно до тварин контрольної групи. Що стосується тварин другої та третьої дослідних груп, варто відмітити, що вміст гідропероксидів ліпідів за впливу L-Glu був майже на рівні контрольних значень.

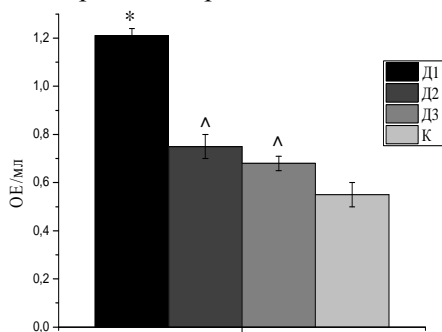


Рис. 3 Вміст гідропероксидів ліпідів у плазмі крові щурів

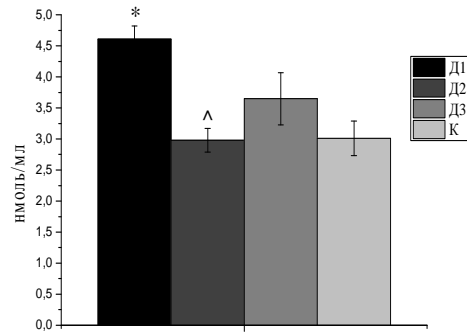


Рис. 4 Вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів

Встановлено, що вміст гідропероксидів ліпідів у тварин другої та третьої дослідних груп, які після інтоксикації нітритом натрію отримували L-глутамінову кислоту у різних дозах був нижчим відповідно на 69,9% та 56,1% порівняно до тварин першої дослідної групи. При різкому активуванні вільнорадикального окиснення, яке мало місце в наших дослідженнях, у тканинах і клітинах пошкоджуються клітинні і субклітинні структури. За таких умов ПОЛ у клітині руйнує фосfolіпіди клітинних мембран, мембрани мітохондрій. Можна припустити, що застосування L-глутамінової кислоти дає додаткові можливості організму вийти на рівень фізіологічних значень.

Відновлений глутатіон можна вважати головним антиоксидантом еритроцитів, оскільки він служить коензимом при відновленні метгемоглобіну в функціонально активний гемоглобін. За допомогою відновленого глутатіону здійснюється детоксикація H_2O_2 і гідропероксидів, які утворюються при реакції активних радикалів Оксигену з ненасиченими жирними кислотами мембрани еритроцитів. Як показали результати досліджень (рис.5), вміст відновленого глутатіону різко знижувався (у 2,09 рази) в еритроцитах щурів першої дослідної групи, що зазнавали гострої дії вищевказаного ксенобіотика порівняно до контролю. Очевидно, що мобілізації власних ресурсів організму недостатньо для подолання стресу, який зазнавали тварини першої дослідної групи за дії нітриту натрію без застосування амінокислот. Не зайвим буде відзначити вірогідно

вищий вміст досліджуваного трипептиду у тварин другої та третьої дослідних груп відповідно у 2,34 та 1,96 рази стосовно тварин, яким вводили нітрит натрію.

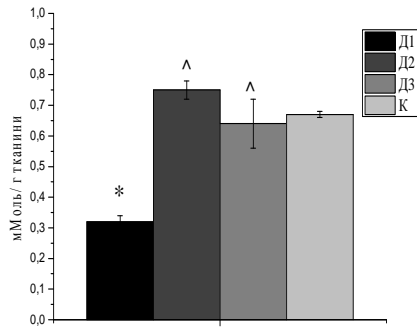


Рис.5 Вміст відновленого глутатіону в еритроцитах крові щурів

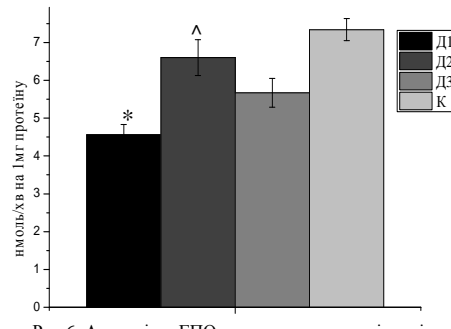


Рис 6. Активність ГПО в еритроцитах крові щурів

Глутатіонпероксидаза є другим важливим захисним ферментом. Глутатіонпероксидазна активність в еритроцитах крові усіх дослідних груп була нижчою порівняно з тваринами контрольної групи (рис.6). На цьому фоні більш вагомо відрізнялися дослідні групи тварин, що отримували різні дози L-Glu, а саме активність ГПО у тварин другої та третьої дослідних груп була на 10,1% і 22,8% нижчою порівняно до контролю. Тоді як у тварин першої дослідної групи ця різниця була 38% стосовно тварин контрольної групи.

Отже, інтоксикація тварин нітритом натрію у дозі 50 мг/кг супроводжувалась активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів та зниженням антиоксидантного потенціалу в крові щурів. Таким чином, аналіз отриманих нами результатів дозволяє говорити про те, що L-Glu володіє антиоксидантними властивостями, завдяки яким сприяє нейтралізації шкідливої дії нітритів, що потрапили в організм.

Висновок

Встановлено, що при дії нітриту натрію в організмі щурів посилюються вільнорадикальні процеси та суттєво знижується антиоксидантний захист. Введення ураженим щурам різних доз L-глутамінової кислоти сприяло зменшенню токсичної дії нітриту натрію.

Список літератури

1. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // Лаб. дело. - 1986. - №12. - С.724-727.
2. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова [и др.] // Лаб.дело. - 1988. - №1. - С.16-18.
3. Коробейникова Э. Н. Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК / Э.Н. Коробейникова // Лаб. дело.-1989, № 7.-С.8-10.
4. Мирончик В.В. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях. Авторское свидетельство №1084681 СССР, МКИ G № 33/48. (СССР). №3468369/2813; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84. Бюл. №13
5. Салига Н.О. Активність глутатіонової ланки антиоксидантного захисту та інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах щурів за дії L-глутамінової кислоти / Н.О. Салига // Український біохімічний журнал. - 2013. - №4 (85). - С.40-47.
6. Салига Н.О. Функціонування антиоксидантної системи щурів за дії L-глутамінової кислоти на фоні експериментального стресу / Н.О. Салига // Вісник ХНУ ім. Каразіна. Серія біологія. - 2013. - Вип.17. - №1056. - С. 28-32.
7. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в преклонном возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Д. Штиренгер // Лаб. дело. - 1991. - Т.10. - С. 9-13.
8. Brosnan J.T. Glutamate: a truly functional amino acid / J.T.Brosnan, M.E. Brosnan // - Amino Acids. - 2012. - Vol. 25. - P. 207-218.
9. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L. Ellman // Arch. Biochem.Biophys. - 1959. - 82, № 1. - С. 70-77.
10. Gerry R. Nitrates in water / R. Gerry // Fert. and Agr.- 1986.- Vol.40.- № 92.- P.55-58
11. Hansen A.M. Glutamate joins the ranks of immunomodulators / A.M. Hansen, R.R. Caspi // Nature medicine. - 2010. - Vol. 16, №8. - P. 856-858.

Реферати

ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС, ПОРАЖЕННЫХ НИТРИТОМ НАТРИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ L-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Салига Н. О.

Исследовано влияние разных доз L-глутаминовой кислоты на активность антиоксидантных ферментов и продуктов пероксидного окисления при действии нитрита натрия. Показано, что введение нитрита натрия приводит к активации свободнорадикальных процессов в организме крыс и снижения активности антиоксидантных ферментов.

ANTIOXIDANT DEFENCE SYSTEM INDICES OF RATS TREATED BY SODIUM NITRITE AND THEIR CORRECTION BY L-GLUTAMIC ACID

Salyha N.O.

The effect of different doses of L-glutamic acid on activity of antioxidant enzymes and lipid peroxidation products under the influence of sodium nitrite was studied. It was shown that administration of sodium nitrite leads to the activation of free radical processes in the organism of rats and decreased activity of antioxidant

Установлено, что введение животным L- глутаминовой кислоты приводит к понижению токсического действия нитрита натрия.

Ключевые слова: крысы, L-глутаминовая кислота, нитрит натрия, антиоксидантная система, интоксикация.

Стаття надійшла 4.03.2016 р.

enzymes. It was established, that introduction of L- glutamic acid leads to the decrease toxic effects of sodium nitrite.

Key words: rats, L-glutamic acid, sodium nitrite, antioxidant system, intoxication.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 611.313:611.16]+[616.379 – 008.64 – 092.4/9 – 02:[616.313:616.16]

Р. Я. Султан, П. Б. Покотило, Ю. В. Гвидик, О. М. Мота, У. М. Галюк
Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, м. Львів

ПЕРЕБУДОВА ГЕМОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ЯЗИКА ЩУРА В ДИНАМІЦІ ПЕРЕБІГУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Метою даної роботи було визначити особливості гемомікроциркуляторного русла язика білого щура в нормі та в динаміці перебігу експериментального цукрового діабету. Для досягнення мети нами було використано наступні морфологічні методики: препарування язика щурів, моделювання стрептозотоциніндукованого цукрового діабету, ін'єкція судинного русла язика щурів, виготовлення і просвітлення зрізів препаратів язика, морфометрія структур судинного русла, статистичне опрацювання морфометричних параметрів та біохімічне дослідження периферійної крові. Отримані нові дані про динаміку перебудови гемомікроциркуляторного русла язика щурів в динаміці перебігу експериментального цукрового діабету.

Ключові слова: гемомікроциркуляторне русло, язик білого щура, цукровий діабет

Робота є фрагментом НДР „Структурна організація, ангіоархітектоніка та антропометричні особливості органів у внутрішньо- та позаутробному періодах розвитку за умов екзо- та ендопатогенних факторів”, № державної реєстрації 0115U000041.

Особливості перебудови органів та їхнього судинного русла за умов цукрового діабету (ЦД) залишається до сьогодні важливою та актуальною проблемою сучасної медицини [4-6, 8-12, 15, 17, 19, 24]. Одним з проявів ЦД є зміни структурної організації стінок ротової порожнини [3, 13, 15, 20-23], а також язика [1, 14, 18]. Саме оглянувши язик і слизову оболонку стінок ротової порожнини можна виявити перші прояви ЦД. У фаховій літературі відсутні дані про зміни язика та динаміку перебудови його гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР) при ЦД.

Метою роботи було описання перебудову ГМЦР язика щура в динаміці перебігу експериментального стрептозотоциніндукованого цукрового діабету (ЕС ЦД) .

Матеріал та методи дослідження. Об'єктом дослідження були 50 статевозрілих білих щурів-самців віком 4,5 – 7,5 місяців і масою тіла 130 – 150 г. Використано комплекс морфологічних методик: препарування язика щурів, моделювання ЦД, ін'єкція судинного русла язика газовою сажею „Темпера”, просвітлення зрізів і фотографування під мікроскопом МБІ-1 на цифровому фотоапараті Olympus FE 210, морфометрія параметрів судинного русла язика на ін'єктованих та просвітлених препаратах, статистичне опрацювання морфометричних параметрів за допомогою пакета прикладних програм на комп'ютері, біохімічне дослідження периферійної крові. У щурів інсулінозалежну форму ЦД I типу викликали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотину (“Sigma” США) з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла тварини (приготованому на 0,1М цитратному буфері, рН=4,5) [2, 7, 24]. Розвиток ЦД протягом 56 днів контролювали за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозоксидазним методом. Дослідження проводили на тваринах з рівнем глюкози понад 13,4 ммоль/л. У тварин з ЕС ЦД забирали язик для дослідження через 2 тижні (1 група – 10 тварин), 4 тижні (2 група – 10 тварин), 6 тижнів (3 група – 10 тварин), 8 тижнів (4 група – 10 тварин) після введення стрептозотину. Інтактні тварини відповідного віку склали 5 контрольну групу. Тварини утримувалися у віварії на стандартному харчовому раціоні.

Результати дослідження та їх обговорення. Від глибокої артерії язика білих щурів-самців лінії відгалужуються численні дорсальні гілки язика. Їхне розгалуження утворює судинну сітку власної пластинки слизової оболонки язика. Морфометричні параметри судин ГМЦР язика щурів в нормі є такими: діаметр артеріол становить $25,50 \pm 0,10$ мкм; капілярів – $5,10 \pm 0,06$ мкм; венул – $38,5 \pm 0,11$ мкм. Артеріоло-венулярний коефіцієнт дорівнює $0,670 \pm 0,003$; густина пакування обмінних судин становить: для артеріол $-0,080 \pm 0,001$; капілярів $0,150 \pm 0,001$, венул – $0,035 \pm 0,001$. Коефіцієнт звивистості судин становить $0,960 \pm 0,002$.