

УДК 616.33-002.44-085

**АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ ТА СКЛАД ГЛІКОПРОТЕЇНІВ
СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ
ПАТОЛОГІЇ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЇ ЗОНИ
ПРИ ЗАСТОСУВАННІ L-АРГІНІНУ-L-ГЛУТАМАТУ**

Л. А. ПОНОМАРЕНКО, завідувач клініко-діагностичної лабораторії,
КЗ "Дніпропетровська обласна дитяча клінічна лікарня" ДОР"

E-mail: kdl17lud@gmail.com

О. А. ЛИХОЛАТ, доктор біологічних наук, професор кафедри товарознавства
та митної експертизи,

Університет митної справи та фінансів

E-mail: lykholat2010@ukr.net

О. М. ХОМЕНКО, кандидат біологічних наук, завідувач кафедри фізіології
людини та тварин біолого-екологічного факультету,

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара

E-mail: khomenkoelen@gmail.com

Анотація. Розповсюдженість та частота ускладнень у групі кислотозалежних захворювань (гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба, виразкова хвороба) спонукають дослідників до подальшого вивчення патофізіологічних чинників даних хвороб та їх корекції. Мета роботи – дослідити стан систем антиоксидантного захисту та склад вуглеводних компонентів муцинів у щурів з ерозивно-виразковою патологією гастродуоденальної зони за дії L-аргініну-L-глутамату. Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 220 – 250 г. Тварин розподілили на три групи. I – контрольну групу (n=6) склали щури, яким внутрішньошлунково через зонд вводили фізіологічний розчин. У II групу (n=6) ввійшли щури з ерозивно-виразковими ураженнями (ЕВУ) гастродуоденальної зони (ГДЗ).

Моделювання ЕВУ ГДЗ здійснювали за наступною схемою: впродовж 7 діб щури отримували ін'єкції медичної жовчі (1 мл/100 г) разом з іммобілізаційно-холодовим стресуванням протягом 1 години за +4 °С, наступні 7 діб не зазнавали дії стресорних чинників та утримувались в умовах віварію зі стандартним раціоном, з виведенням з експерименту на 14-у добу. Щурам III групи (n=6) впродовж 7 діб моделювали ЕВУ за описаною схемою, наступні 7 діб тварини отримували внутрішньочеревні ін'єкції L-аргініну-L-глутамату (20 мг/100 г), з виведенням з експерименту через 14 діб. За умов припинення дії екзогенних ульцерогенних чинників, які ведуть до утворення ерозивно-виразкової патології гастродуоденальної зони, через тижневий термін у тканині шлунка, печінки та крові експериментальних щурів мала місце

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М. інтенсифікація процесів ліпопероксидації із виснаженням системи глутатіону за одночасної зміни у якісному складі глікопротеїдів із збільшенням сіаломуцинів. Застосування L-аргініну-L-глутамату призводило до нормалізації вільнорадикальних процесів, рівня відновленого глутатіону та кількісного та якісного складу глікопротеїнів шлунка. Можливим механізмом, що вплинув на якісний склад муцинів, вірогідно, є взаємодія між окисно-

відновлювальними метаболітами клітин та факторами транскрипції, що регулюють експресію генів MUC. Подальші дослідження мають бути направлені на вивчення молекулярних механізмів взаємодії між шляхами редокс-систем та факторами, що впливають на проліферацію та диференціювання клітин слизової оболонки гастродуоденальної зони.

Ключові слова:кислотозалежна патологія, антиоксидантний захист, муцини, L-аргінін-L-глутамат

Актуальність. Кислотозалежні захворювання (КЗЗ) шлунково-кишкового тракту відносяться до найбільш поширених гастроентерологічних хвороб, характеризуються значною розповсюдженістю, частим розвитком ускладнень та високою вартістю лікування. Тому проблема патогенезу та лікування даної групи захворювань є досить актуальною [1,2].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. За всього розмаїття ендогенних та екзогенних патогенетичних чинників, які призводять до формування кислотозалежної патології, значна увага дослідників зосереджена на питанні порушення гастродуоденального захисного бар'єру та здатності епітеліоцитів до синтезу муцинів. Епітеліальні муцини – це група секреторних та трансмембранних глікопротеїдів, що мають характерні центрально

розташовані поліпептидні ланки з варіабельним числом тандемних повторів, та прикріплених до них О-гліканів, на які приходиться до 80 % від загальної маси муцинів, завдяки чому вони доволі стійкі до дії протеаз [3].

Саме секреторні муцини здатні утворювати захисний слизовий гель. Основні фізико-хімічні властивості муцинів пов'язані з їх вуглеводними компонентами. Глікани муцинових доменів зв'язують великий обсяг води, надаючи муцинам гелеподібних властивостей. О-ланцюги гліканів містять корову структуру, у деяких є осьові регіони, більшість мають периферійні відгалуження, що надають муцинам характерних рис та визначають їх адгезивні властивості. У залежності від біохімічних властивостей периферійних регіонів гліканів муцини розподіляють на нейтральні та кислі (сульфо- та сіаломуцини). У слизовій оболонці (СО) шлунка

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М. переважають нейтральні муцини, а у кишкового тракту – кислі [4, 5].

Натепер описані гени, що кодують коровий білок муцинів. Гени секреторних муцинів MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6 розташовані на хромосомі 11p15.5. Дані муцини картровані за мікроструктурами шлунково-кишкового тракту в нормі та змінюються в умовах патології [7]. Основні муцини шлунка – MUC5AC, MUC5B, MUC6, які мають у складі термінальні епітопи, у більшості, з нейтральними гліканами, тоді як у MUC2, що експресуються келихоподібними клітинами кишкового тракту, периферійні ланцюги є значно сіалізовані [8]. За таких КЗЗ, як гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба та виразкова хвороба, ряд дослідників продемонстрували зміни в експресії генів муцинів: за кишкової метаплазії стравоходу та шлунка спостерігається збільшення продукції MUC2, що є поганим прогностичним фактором та предиктом неопластичних процесів [9 – 12].

Зміни профілю муцинів, які виникають при патологічних станах, пов'язані із регуляторними механізмами, що впливають на експресію генів, а саме на промотори та регуляторні регіони генів MUC через сигнальні транскрипційні шляхи. До зазначених факторів належать запальні цитокіни, гормони, бактеріальні та ліпідні

медіатори, активні кисневі та азотні речовини [13, 14].

Натепер є відомою участь активних форм кисню (АФК) у регулюванні факторів транскрипції. Через реакції окиснення редокс-чутливих амінокислот АФК здатні впливати на зміни у локальній конформації регуляторних білків, змінюючи їх активність, тим самим запускаючи або зупиняючи каскад регуляторних клітинних реакцій. У нормальних фізіологічних умовах дані процеси є збалансованими, але при окисному стресі можуть викликати патологічні зміни при проліферації та диференціюванні клітин [15 – 17].

Розвиток оксидативного стресу є однією із складових ланок патогенезу КЗЗ. Встановлено, що універсальним механізмом пошкодження та загибелі клітин СО гастродуоденальної зони є інтенсифікація вільнорадикальних процесів з подальшим виснаженням антиоксидантних системи організму. Саме надлишок активних кисневих метаболітів за дефіциту таких антиоксидантів, як відновлений глутатіон та супероксиддисмутаза, призводить до канцерогенезу стравоходу та шлунка [18, 19].

Продовжується пошук терапевтичних агентів, здатних впливати на редокс-систему клітин за КЗЗ та здійснювати протективний ефект на СО гастродуоденальної зони (ГДЗ), впливаючи на якісний склад муцинів. Перспективними у

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М. цій галузі є препарати на основі амінокислот, що мають найвищу біодоступність та засвоєння. До зазначеної групи належить сіль L-аргініну-L-глутамату – фармакологічного засобу, відомого своєю гепатопротекторною, антитоксичною та антиокислювальною дією [20].

Мета – дослідити стан систем антиоксидантного захисту та склад вуглеводних компонентів муцинів у щурів з ерозивно-виразковою патологією гастродуоденальної зони при дії L-аргініну-L-глутамату.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 220 – 250 г (n = 18). Тварин розподілили на три групи. I – контрольну групу (n=6) склали щури, яким внутрішньошлунково через зонд вводили фізіологічний розчин. У II групу (n=6) ввійшли щури з ерозивно-виразковими ураженнями (ЕВУ) ГДЗ. Моделювання ЕВУ ГДЗ здійснювали за наступною схемою: впродовж 7 діб щури отримували ін'єкції медичної жовчі (1 мл/100 г) разом з імобілізаційно-холодовим стресуванням протягом 1 години за +4°C, наступні 7 діб не зазнавали дії стресорних чинників та утримувались в умовах віварію зі стандартним раціоном, з виведенням з експерименту на 14-у добу. Щурам III групи (n=6) впродовж 7 діб моделювали ЕВУ за описаною

схемою, наступні 7 діб тварини отримували внутрішньочеревні ін'єкції L-аргініну-L-глутамату (20 мг/100 г), з виведенням з експерименту через 14 діб. По закінченню експерименту евтаназію проводили під наркозом у дозі 1мг/100 г шляхом декапітації згідно вимог, які передбачені Європейською Комісією за наглядом проведення лабораторних та інших досліджень за участю експериментальних тварин.

Об'єкт досліджень: кров, тканини шлунка, печінки щурів. у СО шлунка вміст загальних глікопротеїнів визначали за методом І. І. Шелекетіної та співав. [21]. Рівень сіалових кислот вивчали за методом І. Warren у реакції з тіобарбітуровою кислотою, вміст фукози – за допомогою реакції з солянокислим цистеїном за методом L. Dische, концентрацію гексозамінів – у реакції з ацетилацетоном у лужному середовищі за методом R. Palmer [22]. У крові, гомогенатах тканин шлунка, печінки активність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) визначали за вмістом ТБК-активних продуктів у реакції з тіобарбітуровою кислотою [23]. У дослідних тканинах стан антиоксидантної системи досліджували за рівнем відновленого глутатіону, що детермінували за реакцією Еллмана, та за показниками активності ферментів антиперекисного захисту. Активність каталази (Кат) (КФ 1.11.1.6) оцінювали за реакцією з молібдатом

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М. амонію, глутатіонредуктази (ГР) (КФ 1.8.1.7) – за швидкістю окиснення НАДРН, глутатіонпероксидази (ГПО) (КФ 1.11.1.9) – за методом, в основі якого лежить реакція взаємодії реактиву Еллмана з SH-групами [24], супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1) – за інгібуванням відновлення нітросинього тетразолію [25].

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програмного пакета Statistica 6.0 (StatSoft, США). Обчислювали середнє арифметичне (М) та стандартну похибку середнього арифметичного (m). Вірогідним вважали відмінності на рівні $P < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Аналіз результатів отриманих даних свідчить, що у

тварин з ЕВУ ГДЗ, не зважаючи на відсутність дії екзогенних пошкоджуючих чинників впродовж 7 днів, спостерігались зміни у складі вуглеводних компонентів шлункових муцинів. Так, кількість фукози та гексозамінів була зменшена на 16,5 % та 35,7 % ($p < 0,05$) відповідно, рівень сіалових кислот збільшений на 60,9 % ($p < 0,05$) відносно показників контрольної групи. Кількість загальних глікопротеїдів у щурів II групи мала тенденції до зменшення. Якісні зміни у складі шлункового слизу відбувались за одночасної активації процесів ліпопероксидації, про що свідчить збільшення ТБКАП на 60,5 % ($p < 0,05$) відносно показників контрольної групи (табл.1).

1. Склад муцинів та ПОЛ у шлунку тварин із ерозивно-виразковими ураженнями (М ± m, n = 6)

Показники	I група	II група	III група
Загальні глікопротеїни, мг/мл	0,81 ± 0,07	0,66 ± 0,03	0,84 ± 0,04**
Фукоза, ммоль/л	8,59 ± 0,49	7,17 ± 0,34*	8,5 ± 0,16**
Сіалові кислоти, ммоль/л	1,10 ± 0,05	1,77 ± 0,09*	1,11 ± 0,05**
Гексозаміни, ммоль/л	10,79 ± 0,76	6,93 ± 0,45*	9,47 ± 0,51**
ТБКАП, нмоль/г тканини	4,46 ± 0,39	7,16 ± 0,33*	4,84 ± 0,21**

Примітки: * – $p < 0,05$ вірогідність відмінностей показників між контрольною (I) та дослідними групами; ** – $p < 0,05$ вірогідність відмінностей показників II та III груп

У крові щурів II групи припинення дії чинників, які ініціювали формування патологічного процесу в ГДЗ, не

дозволило нормалізувати інтенсивність процесів ПОЛ у плазмі, про що свідчить збільшений рівень ТБКАП на 26 % ($p < 0,05$) відносно

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М. контрольних індексів. У роботі ензимів антиоксидантного захисту у тварин II групи спостерігався дисбаланс: за активації СОД у 2 рази ($p < 0,05$) у порівнянні з даними контрольної групи показники активності антиперекисних ензимів – Кат та ГПО залишались у межах

контрольних величин. У той же час у системі глутатіону інактивація ГР на 36 % ($p < 0,05$) супроводжувалась виснаженням пулу ВГ на 17 % ($p < 0,05$) відповідно аналогічних показників контрольної групи (табл. 2).

2. Показники ПОЛ і антиоксидантної системи крові у дослідних тварин ($M \pm m, n = 6$)

Показники		I група	II група	III група
ТБКАП, нМоль/мл крові	плазма	2,62±0,12	3,54±0,21*	2,53±0,20**
	еритроцити	14,37±0,99	14,4±0,95	11,75±0,48*,**
СОД, ум. од.		0,037±0,003	0,079±0,001*	0,09±0,005*
Каталаза, мМольН ₂ О ₂ /гНв•хв		3,58±0,13	3,37±0,1	3,42±0,15
ВГ, мМоль/л		2,37±0,037	1,97±0,05*	2,35±0,07**
ГПО, мМольН ₂ О ₂ /гНв•хв		0,096±0,004	0,103±0,004	0,121±0,006*,**
ГР, нМольНаДРН/гНв•хв		0,39±0,01	0,25±0,005*	0,29±0,008*,**

Примітки: див. табл. 1.

У тканині печінки тварин II групи навіть через тиждень після припинення впливу стресорів спостерігалась активація процесів ліпопероксидації, про що свідчить збільшення рівня ТБКАП на 74 % ($p < 0,05$) відносно показників контрольної групи. Водночас відмічено депресію в системі глутатіону: зменшення кількості ВГ на 50 % ($p < 0,05$), інактивація ГПО на 41 % ($p < 0,05$) та ГР на 18, 7 % ($p < 0,05$) відповідно до аналогічних контрольних індексів (табл. 3).

Застосування L-аргініну-L-глутамату у щурів III групи дозволило збільшити кількість загальних глікопротеїдів на 27 % ($p < 0,05$) відносно даних тварин II групи, у результаті зазначений показник досяг контрольних величин. Водночас відбулось відновлення вуглеводних компонентів муцинів: достовірне зростання фукози та гексозамінів ($p < 0,05$) та зниження кількості сіалових кислот ($p < 0,05$). Дані зміни супроводжувались нормалізацією процесів ліпопероксидації,

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М.

зменшенням ТБКАП у тканині шлунка на 32 % ($p < 0,05$) відповідно

до показників щурів II групи (табл. 1).

3. Показники ПОЛ і антиоксидантної системи тканини печінки у дослідних тварин ($M \pm m, n = 6$)

Показники	I група	II група	III група
ТБКАП, нМоль/г	4,0±0,27	6,99±0,2*	5,42±0,31*,**
СОД, ум. од.	0,8±0,05	0,92±0,05	0,81±0,03
Каталаза, мМольH ₂ O ₂ /г•хв	574,20±8,73	550,95±29,69	582,43±31,83
ВГ, мМоль/л	2,58±0,07	1,29±0,11*	1,83±0,15*,**
ГПО, мМольH ₂ O ₂ /г•хв	19,7±0,81	11,5±0,45*	16,86 ±0,75*,**
ГР, мкМольНаДРН/г•хв	0,048±0,001	0,039±0,0006*	0,043±0,001*,**

Примітки: див. табл. 1.

У крові тварин III групи дія L-аргініну-L-глутамату спричинила подальшу активацію СОД на 14 % ($p < 0,05$) за одночасного збільшення активності ГПО на 17 % ($p < 0,05$) та ГР на 16 % ($p < 0,05$), відповідно до аналогічних показників у щурів II групи. Зазначені зміни дозволили відновити пул ВГ ($p < 0,05$) до контрольних індексів, знизити рівень ТБКАП еритроцитів і плазми ($p < 0,05$) (табл. 2).

Під впливом L-аргініну-L-глутамату у тканині печінки щурів III групи мало місце інгібування процесів пероксидації ліпідів, що результувалося у зменшенні ТБКАП на 22 % ($p < 0,05$) у порівнянні з показниками II групи. Ін'єкції L-аргініну-L-глутамату вплинули на показники системи глутатіону печінки: активація ГПО на 46 %

($p < 0,05$) та ГР на 10 % ($p < 0,05$) відбувалось за збільшення рівня ВГ на 41 % ($p < 0,05$) відносно відповідних індексів тварин II групи (табл. 3).

Під час аналізу отриманих даних можливо припустити, що під дією медичної жовчі та холодо-іммобілізаційного стресування у експериментальних щурів відбувається ушкодження СО шлунка та формування ЕВУ. Одночасно спостерігається розвиток окисного стресу, при чому не тільки у тканині шлунка, а й у крові та тканині печінки. Як відомо, жовчні кислоти є детергентами, які сприяють солюбілізації ліпідів мембран епітеліоцитів СО. Зменшення загальної кількості глікопротеїдів та якісні зміни в їх складі унеможливають здатність муцинів СО шлунка перешкоджати

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М. зворотній дифузії H^+ . Припинення безпосереднього впливу екзогенних пошкоджуючих чинників у експериментальних тварин II групи не дозволило нормалізувати якісний склад шлункових глікопротеїдів та інтенсивність процесів ліпопероксидації. При цьому у крові та тканині печінки спостерігався дисбаланс у роботі про- та антиоксидантних систем. Наведені дані свідчать про хронізацію процесу, що за відсутності корекції показників окисного гомеостазу та захисних компонентів СО шлунка може привести до подальших ускладнень та загострення.

Застосування L-аргініну-L-глутамату призводило до якісного та кількісного відновлення шлункових мукопротеїдів, нормалізації роботи системи глутатіону у крові та тканині печінки та інгібування вільнорадикальних реакцій. Зазначені зміни у складі муцинів під дією L-аргініну-L-глутамату, на нашу думку, насамперед пов'язані із впливом препарату на окисний баланс клітин та співвідношення відновлений/окиснений глутатіон, що співпадає з даними, представленими у роботі Ren et al [17]. Є припущення, що ВГ при фізіологічних концентраціях здатний змінювати внутрішньоклітинну окислювально-відновлювальну активність клітин СО, що призводить до змін сигналів клітин шляхом активації/деактивації різноманітних

сигнальних білків. У нашому експерименті вплив стресорних агентів викликав пошкодження СО шлунка та розвиток запалення та окисного стресу. Дані чинники, вірогідно, індукували активацію сімейства окиснозалежних факторів транскрипції, насамперед, NF- κ B (ядерний фактор каппа В), що, у свою чергу, призвело до експресії генів MUC 2, про що свідчить збільшення сіаломуцинів у СО шлунку тварин II групи. Поповнення пулу ВГ та збалансування роботи антиоксидантних ензимів під впливом L-аргініну-L-глутамату дозволило знизити запалення у СО шлунка щурів III групи, що, можливо, опосередковано, призвело до пригнічення експресії сіаломуцинів.

Висновки і перспективи. За умов припинення дії екзогенних ульцерогенних чинників, які ведуть до утворення ерозивно-виразкової патології гастродуоденальної зони, через тижневий термін у тканині шлунка, печінки та крові експериментальних щурів мала місце інтенсифікація процесів ліпопероксидації із виснаженням системи глутатіону при одночасній зміні у якісному складі глікопротеїдів із збільшенням сіаломуцинів. Застосування L-аргініну-L-глутамату призводило до нормалізації вільнорадикальних процесів, рівня відновленого глутатіону та кількісного та якісного

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М. складу глікопротеїнів шлунка. Можливим механізмом, що вплинув на якісний склад муцинів, вірогідно, є взаємодія між окисно-відновлювальними метаболітами клітин та факторами транскрипції, що регулюють експресію генів MUC. Подальші дослідження мають бути

направлені на вивчення молекулярних механізмів взаємодії між шляхами редокс-систем та факторами, що впливають на проліферацію та диференціювання клітин слизової оболонки гастродуоденальної зони.

Список використаних джерел

1. El-Serag H. B., Sweet S., Winchester C. C., Dent J. Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut*. 2014. Vol. 63, № 6. P. 871 – 880. doi: 10.1136/gutjnl-2012-304269.

2. Lanas A., Chan F. K. L. Peptic ulcer disease. *The Lancet*. 2017. Vol. 390, № 10094. P. 613 – 624. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32404-7.

3. Хлынов И. Б., Чикунова М. В. Значение слизисто-бикарбонатного барьера желудка при кислотозависимых заболеваниях. *Русский медицинский журнал*. 2016. Т. 24, № 17. С. 1125-1129.

4. Золотова Н. А. Структурная и функциональная характеристика муцинов. *Клиническая и функциональная морфология*. 2014. № 1. С. 66-72.

5. Кононова С. В. Как фукоза гликотопов групп крови программирует кишечную микробиоту человека. *Биохимия*. 2017. Т. 82, № 9. С. 1259-1277.

6. Bansil, R., Turner, B. S. (2018). The biology of mucus: Composition, synthesis and organization. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2018. Vol. 124. P. 3-15. doi.org/10.1016/j.addr.2017.09.023.

7. Могильная Г. М., Могильная В. Л. Гастроинтестинальный защитный

барьер. *Морфология*. 2007. Т. 132, № 6. С. 9-16.

8. Larsson J.M., Thomsson K. A., Rodríguez-Piñeiro A. M., Karlsson H., Hansson G. C. (2013). Studies of mucus in mouse stomach, small intestine, and colon. III. Gastrointestinal Muc5ac and Muc2 mucin O-glycan patterns reveal a regiospecific distribution. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2013. Vol. 305, № 5. P. 357-363. doi:10.1152/ajpgi.00048.2013.

9. Могильная Г. М., Дурлештер В. М., Могильная В. Л., Дряева Л. Г. Муцины эпителиоцитов пищевода Барретта как предикты трансформации в аденокарциному. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2010. № 3-4. С. 117-118.

10. Вернигородський С. В. Муциновий профіль при передракових змінах та раку шлунка. *Світ медицини та біології*. 2013. № 1. С. 107-112.

11. Niv Y., Fass R. The role of mucus in GERD and its complications. *Nature reviews gastroenterology hepatology*. 2012. Vol. 9, № 1. P. 55-59. doi: 10.1038/nrgastro.2011.211.

12. Behera S. K., Praharaaj A. B., Dehury B., Negi S. Exploring the role and diversity of mucins in health and disease with special insight into non-communicable diseases.

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М.

Glycoconjugate journal. 2015. Vol. 32, № 8. P. 575-613. doi: 10.1007/s10719-015-9606-6.

13. Theodoropoulos G., Carraway K. L. Molecular signaling in the regulation of mucins. *Journal of cellular biochemistry*. 2007. № 102. P. 1103–1116. doi 10.1002/jcb.21539.

14. Gosalia N., Leir S. H., Harris A. Coordinate regulation of the gel-forming mucin genes at chromosome 11p15.5. *The journal of biological chemistry*. 2013. Vol. 288, № 9. P. 6717-6725. doi: 10.1074/jbc.M112.437400.

15. Morgan M. J., Liu Z. G. Crosstalk of reactive oxygen species and NF-κB signaling. *Cell Research*. 2011. № 21. P. 103-115. doi: 10.1038/cr.2010.178

16. Buelna-Chontal M., Zazueta C. Redox activation of Nrf2 & NF-κB: A double end sword? *Cellular Signalling*. 2013. Vol. 25, № 12. P. 2548-2557. doi:10.1016/j.cellsig.2013.08.007
doi:10.1016/j.cellsig.2013.08.007.

17. Protective effects of glutathione on oxidative injury induced by hydrogen peroxide in intestinal epithelial cells / H. Ren, Q. Meng, N. Yepuri, X. Du, J. O. Sarpong, R. N. Cooney *Journal of surgical research*. 2018. № 222. P. 39-47. doi: 10.1016/j.jss.2017.09.041.

18. Bhattacharyya A., Chattopadhyay R., Mirta S., Crowe S. E. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological review*. 2014. Vol. 94, № 2. P. 329-354. doi: 10.1152/physrev.00040.2012.

19. Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of

protection against oxidative stress - induced gastric injury. / Kwiecien S. et al. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2014. Vol. 65, № 5. P. 613-22.

20. Бабак О.Я., Фролов В.М., Харченко Н.В. Глутаргин – фармакологическое действие и клиническое применение: монография. Харьков: Элтон, 2005. 45 с.

21. Клініко-лабораторна оцінка функціонального стану секреторних залоз шлунка (методичні рекомендації) / Руденко А. І. та ін.; Київ, 2004. 23 с.

22. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): учебное пособие / под ред М. И. Прохоровой. Ленинград: Издательство Ленинградского университета, 1982. 272 с.

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

24. Современные проблемы биохимии. Методы исследований: учебное пособие. / Е. В. Барковский и др.; Витебский государственный университет им. П. М. Машелова. Минск: Вышэйшая школа, 2013. 491 с.

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

References

1. El-Serag, H. B., Sweet S., Winchester, C. C., Dent J. (2014). Update on the epidemiology of gastro-

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М. oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut*. 63, (6), 871 – 880. doi: 10.1136/gutjnl-2012-304269.

2. Lanas, A., Chan, F. K. L. (2017) Peptic ulcer disease. *The Lancet*. 390 (10094), 613 – 624. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32404-7.

3. Hlynov, I. B., Chikunova, M. V. (2016). Znachenije slizisto-bikarbonatnogo bar'yera zheludka pri kislotnozavisimyh zabolevaniyakh [The role of gastric mucus-bicarbonate barrier in acid diseases]. *Russkij medicinskij zhurnal*, 17, 1125-1129 (in Russian).

4. Zolotova, N. A. (2014). Strukturnaya i funktsional'naya kharakteristika mutsinov [Structural and functional characteristics of mucins]. *Klinicheskaya i funktsional'naya morfologiya*, 1, 66-72 (in Russian).

5. Kononova, S. V. (2017). Kak fukoza glikotopov grupp krovi programiruet kishchnuju mikrobiotu cheloveka [How fucose of blood group glycotopes programs human intestinal microbiota]. *Biochemistry*, 82 (9), 1259-1277. (in Russian).

6. Bansil, R., Turner, B. S. (2018). The biology of mucus: Composition, synthesis and organization. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 124, 3-15. doi.org/10.1016/j.addr.2017.09.023.

7. Mogil'naja, G. M., Mogil'naja, V. L. (2007). Gastrointestinal'nyj zashhitnyj bar'er [Gastrointestinal protective barrier]. *Morfologija*. 132, 6. 9-16. (in Russian).

8. Larsson, J.M, Thomsson, K. A., Rodríguez-Piñeiro, A. M., Karlsson, H., Hansson, G. C. (2013). Studies of mucus in mouse stomach, small intestine, and colon. III. Gastrointestinal Muc5ac and Muc2 mucin O-glycan patterns reveal a regiospecific

distribution. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 305 (5), 357-363. doi:10.1152/ajpgi.00048.2013.

9. Mogil'naja, G. M., Durlshter, V. M., Mogil'naja, V. L., Drjaeva, L. G. (2010). Muciny jepiteliocitov pishhevoda Barretta kak predikty transformacii v adenokarcinomu [Epithelial mucin Barrett esophagus as predicty transformation inty adenocarcinoma]. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 3-4, 117-118. (in Russian).

10. Vernygorodskij, S. V. (2013). Mucynovyj profil pryperedrakovykh zminax ta raku shlunka [Mucin profile in precancerous changes cancer of the stomach]. *World of medicine and biology*. 31(1), 107-112. (in Ukrainian)

11. Niv, Y., Fass, R. (2012). The role of mucin in GERD and its complications. *Nature reviews gastroenterology hepatology*. 9 (1), 55-59. doi: 10.1038/nrgastro.2011.211.

12. Behera, S. K., Praharaj, A. B., Dehury, B., Negi, S. (2015). Exploring the role and diversity of mucins in health and disease with special insight into non-communicable diseases. *Glycoconjugate journal*. 32 (8), 575-613. doi: 10.1007/s10719-015-9606-6.

13. Theodoropoulos, G., Carraway, K. L. (2007). Molecular signaling in the regulation of mucins. *Journal of cellular biochemistry*. 102, 1103–1116. doi 10.1002/jcb.21539.

14. Gosalia, N., Leir, S. H., Harris, A. (2013). Coordinate regulation of the gel-forming mucin genes at chromosome 11p15.5. *The journal of biological chemistry*. 288, (9), 6717-6725. doi: 10.1074/jbc.M112.437400.

15. Morgan, M. J., Liu, Z. G. (2011). Crosstalk of reactive oxygen

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М. species and NF- κ B signaling. *Cell Research*. 21, 103-115. doi: 10.1038/cr.2010.178.

16. Buelna-Chontal, M., Zazueta, C. (2013). Redox activation of Nrf2 & NF- κ B: A double end sword? *Cellular Signalling*. 25 (12), 2548-2557. doi:10.1016/j.cellsig.2013.08.007.

17. Ren, H., MD, Meng, Q, Yepuri N., Du, X, Sarpong, J. O., Cooney, R. N. (2018). Protective effects of glutathione on oxidative injury induced by hydrogen peroxide in intestinal epithelial cells. *Journal of surgical research*. 222, 39-47. doi: 10.1016/j.jss.2017.09.041.

18. Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mirta, S., Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological review*. 94 (2), 329-354. doi: 10.1152/physrev.00040.2012.

19. Kwiecien, S, Jasnos, K, Magierowski, M, Sliwowski, Z, Pajdo, R, Brzozowski, B, Mach, T, Wojcik, D, Brzozowski, T. (2014). Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress - induced gastric injury. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 65(5), 613-22.

20. Babak, O. J., Frolov, V. M., Harchenko, N. V. (2005). Glutargin – farmakologicheskoe dejstvie i klinicheskoe primenenie [Glutargin - pharmacological action and clinical application]. Har'kov: Jelton-2, 45. (in Russian).

21. Rudenko, A. I., Majkova, T. V., Mosijchuk, L. M., Ponomarenko, O. A., Tolstikova, T. M., & Sirotenko, A. S.

(2004). Kliniko-laboratorna ocinka funkcional'nogo stanu sekretornih zaloz shlunka (metodichni rekomendacii) [Clinical and laboratory evaluation of functional state of the secretory glands of the stomach (methodical recommendations)]. Kii'v, 2004. (in Ukrainian).

22. Prohorova M. I (Red.). (1982). *Metody biohimicheskikh issledovanij (lipidnyj i jenergeticheskij obmen)* [Methods of biochemical research (lipid and energy metabolism)]. Leningrad: Leningradskij universitetet. (in Russian).

23. Ovsjannikova M. M., Al'ohina S. M., & Drobins'ka O. V. (1999). Biohimichni ta biofizichni metodi ocinki porushen' okisljuval'nogo gomeostazu v osib, shho zaznali radiacijnogo vplivu vnaslidok avarii na ChAES. (metodichni rekomendacii) [Biochemical and biophysical methods for evaluating the disturbances of oxidative homeostasis in persons who have undergone radiation influence as a result of the Chernobyl accident. (methodical recommendations)]. Kii'v. (in Ukrainian).

24. Barkovskij, E. V., Bokut', S. B., Borodinskij, A. N., Buko, V. U., Valentjukevich , O. I., Gricuk, A. I. ... Chirkin, A. A. (2013). *Sovremennye problemy biohimii. Metody issledovanij* [Modern problems of biochemistry. Research Methods]. Vysha Shkola, Minsk:.(in Russian).

25. Pereslegina, I. A. (1989) Aktivnost' antioksidantnyh fermentov sljunny u zdorovyh detej [Activity of antioxidant saliva enzymes in healthy children]. *Laboratornoe delo*, 11, 20-23. (in Russian).

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М.

АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА И СОСТАВ ГЛИКОПРОТЕИНОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ЗОНЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ L-АРГИНИНА-L-ГЛУТАМАТА

Л. А. Пономаренко, О. А. Лихолат,
О. М. Хоменко

Анотация. Распространенность и частота осложнений в группе кислотозависимых заболеваний (гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, язвенная болезнь) побуждают исследователей к дальнейшему изучению патофизиологических факторов данных болезней и их коррекции. Цель работы – исследовать состояние систем антиоксидантной защиты и состав углеводных компонентов у крыс с эрозивно-язвенной патологией гастродуоденальной зоны при воздействии L-аргинина-L-глутамата. Исследования проводили на беспородных крысах-самцах массой 220-250 г. Животных разделяли на три группы. I – контрольную группу (n=6) составили крысы, которым внутрижелудочно через зонд вводили физиологический раствор. Во II группу (n=6) вошли крысы с эрозивно-язвенными поражениями (ЭЯП) гастродуоденальной зоны (ГДЗ). Моделирование ЭЯП ГДЗ осуществляли по следующей схеме: в течение 7 суток крысам внутрижелудочно вводили медицинскую желчь (1 мл/100 г) и

подвергали холодо-иммобилизационному стрессированию в течении 1 часа, последующие 7 суток животные не подвергались воздействию стрессорных факторов и содержались в условиях вивария со стандартным рационом питания, с выведением из эксперимента на 14 сутки. Крысам III группы (n=6) в течении 7 суток моделировали ЭЯП согласно обозначенной выше схеме, следующие 7 суток животные получали внутрибрюшинные инъекции L-аргинина-L-глутамата (20 мг/100 г), с выведением из эксперимента на 14 сутки. В условиях прекращения действия экзогенных ульцерогенных факторов, что приводили к формированию эрозивно-язвенной патологии ГДЗ, через недельный срок в тканях желудка, печени и крови экспериментальных крыс наблюдалась интенсификация процессов липопероксидации с истощением системы глутатиона при одновременном изменении количественного и качественного состава гликопротеидов с увеличением сиаломуцинов. Использование L-аргинина-L-глутамата приводило к нормализации свободнорадикальных процессов, уровня восстановленного глутатиона и количественного и качественного состава гликопротеинов желудка. Возможным механизмом, влияющим на качественный состав муцинов, вероятно, является взаимодействие между окислительно-восстановительными метаболитами клеток и факторами транскрипции, которые регулируют экспрессию

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М.
 генов MUC. Дальнейшие
 исследования могут быть
 направлены на изучение молекулярных
 механизмов взаимодействия между
 путями редокс-систем и факторами,
 влияющими на пролиферацию и
 дифференцировку клеток слизистой
 оболочки гастродуоденальной зоны.

Ключевые слова:
 кислотозависимая патология,
 антиоксидантная защита, муцины,
 L-аргинин-L-глутамат

**ANTIOXIDANT PROTECTION
 AND GLYCOPROTEINS
 COMPOSITION OF THE GASTRIC
 MUCOSA IN THE
 EXPERIMENTAL PATHOLOGY
 OF THE GASTRODUODENAL
 ZONE WITH THE USE OF
 L-ARGININE-L-GLUTAMATE**

**L. A. Ponomarenko, O. A. Lykholat,
 O. M. Khomenko**

Abstract. The prevalence and frequency of complications in the acid-dependent diseases group (gastroesophageal reflux disease, peptic ulcer disease) prompts researchers to further study the pathophysiological factors of these diseases and their correction. The purpose of the work is to investigate the state of antioxidant protection systems and mucinum carbohydrate components composition in rats with erosive-ulcer pathology of the gastroduodenal zone under the action of L-arginine-L-glutamate. The studies were carried out on white, non-breeding male rats weighing 220-250 g. The animals were divided into three groups. I - control group (n = 6) were rats injected intragastrically through a probe physiological solution. In group

II (n = 6) rats with erosive-ulcerous lesions (EUL) of the gastroduodenal zone (GDZ) entered. EUL modeling was carried out according to the following scheme: for 7 days, rats received injections of medical bile (1 ml / 100 g), together with immobilization and cold stresses for 1 hour at + 4 ° C, the following 7 days weren't subjected to stressors and were kept in conditions of vivarium with a standard diet, with withdrawal from the experiment for the 14th day. For the 7th rats of the third group (n = 6), for 7 days EUL was modeled according to the scheme described, the following 7 days of the animals received intra-abdominal injections of L-arginine-L-glutamate (20 mg / 100 g), with an exclusion from the experiment in 14 days. At the conditions of stopping influence of exogenous ulcerogenic factors leading to the formation of the erosive-ulcerative pathology of the gastroduodenal zone, after one week in the tissue of the stomach, liver and blood of experimental rats intensification of lipoperoxidation processes with depletion of the glutathione system while simultaneously changing the composition of glycoproteins with increasing sialomuccinum were found. The use of L-arginine-L-glutamate resulted in the normalization of free radical processes, the level of reduced glutathione and the quantitative and qualitative composition of glycoproteins of the stomach. A possible mechanism that affects the mucinum qualitative composition is likely to be the interaction between the oxidative-reducing cell metabolites and the transcription factors regulating expression of the MUC genes. Further research should be directed on studying

Пономаренко Л. А., Лихолат О. А., Хоменко О. М.
the molecular mechanisms of interaction between paths of redox systems and factors influencing the proliferation and differentiation of mucosal cells of the gastroduodenal zone.

Key words: *acid-dependent pathology, antioxidant defense, mucins, L-arginine-L-glutamate*