

КОРЕКЦІЯ ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ У СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ ВІТАМІНІВ С ТА Е ПРИ СТРЕСІ

Н. Р. Шамро¹, І. Б. Грюк¹, О. Я. Склярів²

¹Рівненський державний гуманітарний університет

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

В експериментах на білих щурах показано, що за умов стресу, викликаного введенням в їх організм адреналіну, відбувається активація процесів ліпопероксидації, вмісту нітроген оксиду та зростання активності супероксиддисмутази (СОД). Самостійна дія вітамінів Е та С призводить до зниження активності процесів ліпопероксидації та вмісту NO у слизовій оболонці товстого кишечника (СОТК) при стресі, при цьому дія вітаміну С є вираженішою. Одноразове введення вітаміну Е на фоні стресу призводило до незначних змін вмісту продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК), зниження вмісту NO та зменшення активності СОД у СОТК. Одноразове введення вітаміну С на фоні стресу мало виражений антиоксидантний вплив, при цьому знижувались процеси ліпопероксидації шляхом зменшення вмісту продуктів ТБК, підвищувалась активність СОД та знижувався вміст NO. Поєднана дія вітамінів Е і С не призводила до посилення гальмування процесів ліпопероксидації та зменшення рівня NO у СОТК, домінував ефект дії вітаміну Е.

Перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) є одним з найпоширеніших механізмів деструкції мембранних структур, що активується при розвитку багатьох патологічних станів, а також при стресі. Дія стресу — один із факторів, що може призводити до виникнення ульцерогенного коліту [1].

Ефективність роботи ферментативної ланки антиоксидантного захисту характеризує активність СОД, що каталізує реакцію дисмутації супероксидного радикалу, а також активність каталази, яка руйнує пероксид водню без участі акцепторів кисню. У підтримці антиоксидантного статусу беруть участь також вітаміни Е, С, А [2].

Антиоксидантна дія вітамінів Е та С відзначена при різних патологічних процесах: оксидативному ушкодженні клітин крові, нейро- та гепатотоксичних станах, експериментальному діабеті, токсичному ушкодженні нирок тощо. Антиоксидантна дія вітамінів Е та С є різною, що обумовлено їх різним місцезнаходженням у клітині — вітамін Е локалізується переважно в ліпідах мембран, а вітамін С — у водорозчинному вигляді в цитоплазмі клітин [3]. Різними також є і механізми підтримки антиоксидантного статусу в клітині, а саме, вітамін Е перериває ланцюг окисних процесів у мембранах клітин, тоді як аскорбінова кислота зв'язує активні форми кисню — супероксидний радикал (O_2^-), пероксид водню (H_2O_2), гідроксильний радикал (OH^\cdot), синглетний кисень та гіпохлоридну кислоту ($HOCl$) [4], а також взаємодіє з відновленим глутатіоном або вітаміном Е [5].

Незважаючи на те, що вивченню ролі вітамінів Е і С у процесах антиоксидантного захисту організму приділяється суттєва увага, суперечною лишається ціла низка питань стосовно їх ролі в слизовій оболонці товстої кишки за дії стресу.

Метою роботи було вивчення ролі антиоксидантних вітамінів Е та С за умов стресу в регуляції процесів ліпопероксидації, активності ензимів антиоксидантного захисту та вмісту NO в слизовій оболонці товстої кишки.

Матеріали і методи

Дослідження провели на 48 білих щурах-самцях масою 180–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію, згідно з міжнародними умовами проведення експериментів з лабораторними тваринами. Стрес моделювали інтраперитонеальним введенням адреналіну (2 мг/кг) [6]. Забір матеріалу для досліджень проводили під уретановим знечуленням (1,1 мг/кг). Вітамін Е вводили внутрішньом'язево в дозі 150 мг/кг, вітамін С вводили в дозі 200 мг/кг внутрішньом'язево.

Піддослідних тварин розділили на 5 груп: перша — контрольна група; друга група — тварини, в яких моделювали дію стресу шляхом введення адреналіну (2 мг/кг); третя — тварини, яким вводили внутрішньом'язево вітамін Е за 30 хв до моделювання стресу; четверта — тварини, яким вводили внутрішньоочеревинно вітамін С за 30 хв до моделювання стресу; п'ята — тварини, яким одночасно вводили вітамін Е та вітамін С у вищевказаних дозах на фоні дії адреналіну.

Для оцінки процесів ліпопероксидації у слизовій оболонці товстої кишки визначали вміст продуктів ТБК за методом, описаним Тимурбулатовим М. А. [7] та вміст NO — за методом Green L. C. [8]. Оцінку антиоксидантного стану визначали за зміною активності СОД за методом Чеварина С. [9] та каталази — за методом Королюка М. А. [10]. Контролем розвитку стресової реакції при дії адреналіну були структурно-геморагічні ушкодження в слизовій оболонці шлунка.

Отримані результати оброблені методом варіаційної статистики з використанням критерію t Стюдента.

Результати й обговорення

Аналіз одержаних результатів свідчить про те, що дія адреналіну призводила до зростання вмісту продуктів ТБК на 41 %, вміст NO підвищувався на 85 % ($p < 0,05$), активність СОД зростала на 22 %, активність каталази зменшувалась на 9 % у слизовій оболонці товстої кишки (табл. 1). Зростання процесів ліпопероксидації при стресі є закономірним, що обумовлено розвитком гіпоксії, підвищенням інфільтрації слизовій оболонці товстої кишки нейтрофілами і, відповідно, зростанням вмісту супероксидного радикалу, який генерується NADPH-оксидазою нейтрофілів та гіпоксантин-ксантин оксидазною системою. Це супроводжується тенденцією до підвищення активності СОД. За умов стресу активується iNOS та зростає утворення пероксинітриту, який одночасно з активними формами кисню та ліпідними радикалами викликає порушення метаболічних процесів у клітині та виникнення деструктивних ушкоджень клітин слизовій оболонці товстої кишки.

Таблиця 1

Вміст продуктів ТБК, нітроген оксиду та активність ензимів системи антиоксидантного захисту (СОД, каталаза) у слизовій оболонці товстої кишки за умов стресу

Серії досліджень	продукти ТБК мкмоль/г тк.	NO мкмоль/л	СОД мкмоль НСТ/ хв·мг білка	Каталаза мкмоль H ₂ O ₂ /хв. л
Інтактний	237,7±23,5	16,5±2,76	17,1±2,09	0,316±0,03
Адреналін	334,7±27,9	30,5±6,05	20,9±5,72	0,289±0,015
Ад + віт Е	280,4±28,2	18,9±1,57*	24,4±16,9	0,317±0,07
Ад + віт С	255,0±22,8*	16,8±4,82*	17,4±4,9	0,266±0,004
Ад + віт Е + віт С	297,6±22,3	18,6±1,62	20,8±4,1	0,314±0,06

Примітка: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,001$ у порівнянні з впливом адреналіну

За умов одноразового введення вітаміну Е на фоні адреналіну відбувалось зменшення вмісту продуктів ТБК на 17 % та NO на 38 % ($p < 0,05$), активність СОД незначно зростала, а активність каталази поверталась до вихідних значень. Отже, антиоксидантний вплив вітаміну Е проявлявся у зниженні активності процесів ліпопероксидації та активності NO-синтаз. У попередніх дослідженнях було відзначено, що вітамін Е на фоні ульцерогенних ушкоджень слизової оболонки шлунка, викликаних аспірином, призводив до зниження ульцерогенних ушкоджень, вмісту МДА, ПГЕ₂ та секреції кислоти [11].

Одноразове введення вітаміну С на фоні стресу виявило виразний антиоксидантний ефект, який проявлявся в різкому зниженні вмісту продуктів ТБК на 24 % ($p < 0,05$), NO — на 55 % ($p < 0,05$). Активність СОД була на рівні показників інтактних тварин, активність каталази була зменшеною.

Антиоксидантна та протизапальна дія вітаміну С пов'язана з тим, що аскорбінова кислота може зв'язувати пероксинітрит та супероксидний радикал, знижувати експресію iNOS, інгібувати ЦОГ-2 стимульовану продукцію ПГЕ₂, попереджувати адгезію нейтрофілів до ендотелію шляхом зв'язування активних форм кисню, що виділяються активованим нейтрофілами та зменшувати інфільтрацію нейтрофілів та експресію mRNA прозапальних цитокінів — інтерлейкіну-1 β та фактора некрозу пухлин α , активувати експресію mRNA антиоксидантних ензимів — СОД, глутатіонпероксидази та каталази [12–15].

Порівнюючи антиоксидантну дію вітамінів Е та С, можна відзначити, що більш виражений вплив викликав вітамін С. Поєднане введення вітамінів Е та С у наших дослідженнях не призводило до посилення їх антиоксидантної дії — вміст продуктів ТБК був меншим у порівнянні з показниками при дії стресу, однак, з іншого боку, — вищим, ніж самотійна дія вітамінів Е або С. Вміст NO у СOTK був на рівні показників впливу вітаміну Е, активність СОД — зменшена. Дія вітаміну Е була домінуючою, що, можливо, пов'язано з різними факторами: потраплянням вітаміну С у клітину, блокуванням дії вітаміну С, особливостями метаболізму вітамінів у СOTK та їх впливом на активність iNOS та циклооксигеназу-2.

Висновки

1. Одноразове введення вітаміну Е на фоні стресу, викликаного дією адреналіну, призводило до зменшення вмісту продуктів ТБК, вмісту нітроген оксиду, активність СОД дещо зростала у слизовій оболонці товстої кишки.

2. Одноразове введення вітаміну С на фоні стресу мало виражений антиоксидантний вплив, при цьому знижувались процеси ліпопероксидації шляхом зменшення вмісту продуктів ТБК, активність СОД та вміст NO знижувались.

3. Поєднана дія вітамінів Е і С не призводила до посилення гальмування процесів ліпопероксидації, виявлялась домінуюча дія вітаміну Е.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення екзогенно введених вітамінів Е та С дозволить визначити їх роль у регуляції активності й розкрити процеси взаємодії між вітамінами Е і С та iNOS і циклооксигеназою-2 у слизовій оболонці товстої кишки.

N. R. Shamro, I. B. Hryuk, O. Ya. Sklyarov

CORRECTION OF LIPID PEROXIDATION IN THE RATS LARGE INTESTINE MUCOUS MEMBRANE AT THE COMBINED ACTION OF VITAMINS C AND E AT STRESS

S u m m a r y

In the experiments on white rats, it was shown that under conditions of stress caused by injection of adrenaline there occurred enhancement of lipid peroxidation processes, increase of nitrogen oxide content and enhancement of SOD activity. Independent action of vitamin E and vitamin C resulted in reduction of lipid peroxidation processes and decrease of NO content in the MMLI, at that, effect of vitamin C was more pronounced. Single-dose injection of vitamin E at the background of stress led to insignificant changes of the content of TBA products, decrease of NO content, and reduction of SOD activity in the MMLI. Single-dose injection of vitamin C at the background of stress had a noticeable antioxidant effect, at that, lipoperoxidation processes diminished due to decrease of the content of TBA products, activity of SOD enhanced, and content of NO decreased. Combined action of vitamin E with vitamin C failed to cause inhibition of liperoxidation processes and decrease of NO content in the MMLI, and effect of vitamin E was predominant.

Н. Р. Шамро, И. Б. Грюк, А. Я. Скляров

КОРРЕКЦИЯ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС В УСЛОВИЯХ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ВИТАМИНОВ С И Е ПРИ СТРЕССЕ

А н н о т а ц и я

В экспериментах на белых крысах показано, что в условиях стресса, вызванного введением адреналина, происходит увеличение процессов липопероксидации, содержания оксида азота и увеличение активности СОД. Самостоятельное действие витаминов Е и С приводит к уменьшению процессов липопероксидации и содержания NO в слизистой оболочке толстой кишки при стрессе, при этом действие витамина С является более выраженным. Одноразовое введение витамина Е на фоне стресса приводило к незначительным изменениям содержания продуктов ТБК, снижению содержания NO и уменьшению активности СОД в слизистой оболочке толстой кишки. Одноразовое введение витамина С на фоне стресса имело мало выраженное антиоксидантное влияние, при этом снижались процессы липопероксидации путём уменьшения содержания продуктов ТБК, повышалась активность СОД и снижалось содержание NO. Совместное действие витаминов Е и С не приводило к усилению торможения процессов липопероксидации и уменьшению уровня NO в слизистой оболочке толстой кишки, доминировал эффект действия витамина Е.

1. *Scaldaferri F.* Inflammatory bowel disease: progress and current concepts of etiopathogenesis / F. Scaldaferri, C. Fiocchi // *J. Dig. Dis.* — 2007. — Vol. 8. — P. 171–178.
2. *Konturek P. C.* Effect of vitamin C-releasing acetylsalicylic acid on gastric mucosal damage before and after *Helicobacter pylori* eradication therapy / P. C. Konturek, J. Kania, U. Gessner et al. // *Eur. J. Pharmacol.* — 2004. — 506, N 2. — P. 169–177.
3. *Drake I. M.* Ascorbic acid may protect against human gastric cancer by scavenging mucosal oxygen radicals / I. M. Drake, M. J. Davies, N. P. Mapstone et al. // *Carcinogenesis.* — 1996. — Vol. 17, N 3. — P. 559–562.
4. *Deutsch J. C.* Ascorbic acid oxidation by hydrogen peroxide / J. C. Deutsch // *Anal Biochem.* — 1998. — Vol. 255. — P. 1–7.
5. *Kamiya Y.* A critical role of gastric mucosal ascorbic acid in the progression of acute gastric mucosal lesions induced by compound 48/80 in rats / Y. Kamiya, Y. Ohta, Y. Imai et al. // *World J. Gastroenterol.* — 2005. — 11, N 9. — P. 1324–1330.

6. Белостоцкий Н. И. Язвообразование в слизистой оболочке желудка крыс под влиянием катехоламинов / Н. И. Белостоцкий // Патологическая физиология и экспериментальная медицина. — 1988. — № 1. — С. 24–27.
7. Тимурбулатов М. А. Определение малонового диальдегида в плазме крови / М. А. Тимурбулатов, Е. И. Селезнева // Лаб. дело. — 1981. — № 4. — С. 209–211.
8. Green L. C. Analysis of nitrate, nitrite and (1515) nitrate in biological fluids. / L. C. Green, A. W. David // Anal. Biochem. — 1982. — 126. — P. 131–138.
9. Чеварин С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чеварин, Т. Анделя, Я. Штрэнгер // Лаб. дело. — 1991. — № 10. — С. 9–13.
10. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.
11. Jiang Q. Gammatocopherol and its major metabolite, in contrast to alpha-tocopherol, inhibit cyclooxygenase activity in macrophages and epithelial cells / Q. Jiang, I. Elson-Schwab, C. Courtemanche et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. — 2000. — 97. — P. 11494 — 11499.
12. Dwenger A. Effect of ascorbic acid on neutrophil functions and hypoxanthine/xanthine oxidase-generated, oxygen-derived radicals / A. Dwenger, M. Funk, B. Lueken et al. // Eur J Clin Chem Clin Biochem. — 1992. — 30. — P. 187–191.
13. Jonas E. In vitro effect of ascorbic acid on neutrophil-dendrothelial cell interaction / E. Jonas, A. Dwenger, A. Hager // J Biolumin Chemilumin. — 1993. — Vol. 8, N 1. — P. 15–20.
14. Whiteman M. Protection against peroxynitrite — dependent tyrosine nitration and a1-antiproteinase inactivation by ascorbic acid. A comparison with other biological antioxidants / M. Whiteman, B. Halliwell // Free Radic Biol Med. — 1996. — Vol. 25. — P. 275–283.
15. Kamiya Y. A critical role of gastric mucosal ascorbic acid in the progression of acute gastric mucosal lesions induced by compound 48/80 in rats / Y. Kamiya, Y. Ohta, Y. Imai et al. // World J. Gastroenterol. — 2005. — 11, N 9. — P. 1324–1330.

Рецензент: завідувач кафедри медичної біології, паразитології та генетики, доктор медичних наук, професор Воробець З. Д.