

ВПЛИВ ОЛІЇ АМАРАНТУ НА СТАН СИСТЕМИ L-АРГІНІН/NO-СИНТАЗИ/NO В ТОВСТІЙ КИШЦІ ПРИ ВИРАЗКОВОМУ КОЛІТІ

У роботі наведено дані про вплив олії амаранту на стан системи L-аргінін/NO-синтази/NO при виразковому коліті. Показано, що олія амаранту, будучи багатокомпонентною біологічно активною речовиною, знижує активність індукційної NO-синтази та продукцію нітрогену оксиду в слизовій оболонці товстої кишки і полегшує перебіг виразкового коліту, причому її інгібіторна активність є не меншою, ніж у селективного блокатора iNO-синтази – аміногуанідину. Це дає змогу рекомендувати олію амаранту для застосування у хворих з колітом.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: виразковий коліт, олія амаранту, система L-аргінін/NO-синтази/NO, аміногуанідин.

ВСТУП. В попередніх дослідженнях нами було показано, що при введенні олії амаранту на фоні експериментального коліту спостерігалось полегшення перебігу захворювання: зменшувалась площа уражень слизової оболонки товстої кишки (СОТК), знижувались процеси ліпопероксидації в СОТК, а також відновлювалось співвідношення ненасичені/насичені жирні кислоти в плазмі крові [3].

Відомо, що в розвитку коліту, крім оксидативних процесів, значну роль відіграє система L-аргінін/NO-синтази (NOS)/NO. За умов коліту відзначають зростання експресії iNOS, що зумовлює продукування великої кількості нітрогену оксиду утворення цитотоксичного пероксинітриту. На даний час існують специфічні блокатори iNOS, але актуальним є пошук лікарських препаратів рослинного походження, здатних блокувати активність iNOS, запобігати загостренню та полегшити перебіг коліту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 40 білих безпородних щурах-самцях і виконано згідно з етичними критеріями роботи з лабораторними тваринами. Анестезію здійснювали за допомогою тіопенталу в дозі 40 мг/кг, умертвіння – шляхом декапітації. Моделювання коліту в щурів проводили введенням 4 % оцтової кислоти в товсту кишку на 30 с [4]. Серії досліджень: 1-ша – інтактні тва-

рини; 2-га – тварини, в яких моделювали коліт; 3-тя – тварини, яким при коліті вводили селективний блокатор iNOS – аміногуанідин у дозі 20 мг/кг; 4-та – тварини, які отримували олію амаранту при коліті в дозі 2 мл/кг. Препарати вводили двічі – за 30 хв до моделювання коліту та на 2 день.

У гомогенаті СОТК визначали активність NO-синтаз [11], вміст NO [2], у плазмі крові – концентрацію L-аргініну [1].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми "Statistica 7".

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Виразковий коліт супроводжувався зростанням активності загальної NOS – майже в 2,5 раза ($p < 0,05$), в основному за рахунок активності iNOS (в 7 разів) ($p < 0,05$). При цьому рівень нітрит-аніона підвищувався на 69 % ($p < 0,05$). Концентрація L-аргініну в сироватці крові знижувалась на 52 % ($p < 0,05$).

Введення аміногуанідину зменшувало активність iNOS на 45 % ($p < 0,05$), вміст нітрит-аніона – на 29 % ($p < 0,05$) в СОТК, а концентрація L-аргініну в плазмі крові зростала на 55 % ($p < 0,05$).

При введенні олії амаранту на фоні коліту активність загальної NOS зменшувалась на 56 % ($p < 0,01$), iNOS – на 64 % ($p < 0,01$), рівень нітрит-аніона знижувався на 31 % ($p < 0,05$). Концентрація L-аргініну в плазмі крові зростала на 21 % (табл. 1).

Розвиток виразкового коліту супроводжується підвищенням інфільтрації слизової оболонки нейтрофілами та моноцитами, які при активації виділяють прозапальні цитокіни – TNF- α , IFN- γ , IL-1 β та кисневі радикали, внаслідок чого підвищується експресія iNOS, ЦОГ-2, ядерного транскрипційного фактора NF- κ B та зростають процеси перекисного окиснення ліпідів. Це призводить до виникнення деструктивних пошкоджень слизової оболонки товстої кишки – порушується слизовий бар'єр, спостерігаються набряк, виразки, ерозії, крововиливи [5, 9].

Надходження в організм ненасичених жирних кислот викликає зниження експресії iNOS у щурів з колітом. Цей ефект зумовлений антиоксидантними властивостями компонентів олій, пов'язаних із взаємозв'язками між оксидативним стресом та регуляцією експресії iNOS [13]. Оскільки існує взаємозв'язок між активацією NF- κ B та посиленням експресії iNOS, інгібування того чи іншого сигнального каскаду може також пояснювати інгібіторний ефект на експресію iNOS в кишці, що спостерігається в щурів з експериментальним колітом при застосуванні різних олій [12, 13].

Жирні кислоти та їх метаболіти можуть проявляти цитопротекторний ефект шляхом зв'язування з PPAR γ -рецепторами, що впливає на експресію генів, а також без участі PPAR γ -рецепторів [6]. У товстій кишці PPAR γ -рецептори експресуються в епітеліальних клітинах і, мен-

шою мірою, в макрофагах та лімфоцитах [3]. Вони беруть участь у регуляції процесів запалення в кишці. Чисельні ліганди PPAR γ -рецепторів проявляють виражений протизапальний ефект на різних моделях коліту в гризунів і людей шляхом зменшення продукції прозапальних цитокінів – IL 1 β , 6, 8 та ФНП- α [7]. Ліноленова кислота, крім того, інгібує продукцію інтерферону- γ та прозапальних ферментів – iNOS та ЦОГ-2. Це зумовлено її впливом на промотор iNOS [6]. ω -3 ненасичені жирні кислоти також модулюють жирнокислотний склад фосфоліпідів мембран клітин. Їх протизапальний ефект може бути пов'язаний і з інгібуванням тол-подібних рецепторів-4 (TLR4) [10].

Докозагексенова та ейкозапентенова (ЕПК) кислоти значно знижують рівень ПГЕ₂ і ЛТВ₄ та індують продукцію ПГЕ₃ і ЛТВ₅, що мають протизапальний ефект у людей при коліті та в експериментальних тварин [7, 8]. Резольвіни, похідні з ЕПК, проявляють виражені протизапальні властивості за умов TNBS-індукованого коліту [6].

ВИСНОВОК. Встановлено, що олія амаранту, будучи багатим природним джерелом різних біологічно активних речовин (ненасичені жирні кислоти, вітамін Е, сквален, фітостерини, фосфоліпіди), проявляє виражений ефект на роботу NO-синтазної системи в СОТК при коліті, справляючи цитопротекторний ефект, що дозволяє рекомендувати її для профілактики та лікування виразкового коліту.

Таблиця 1 – Активність NO-синтаз, вміст нітрит-аніона у СОТК і концентрація L-аргініну в плазмі крові за умов блокування iNOS та введення олії амаранту при коліті (M \pm m)

Серія досліджень	NOS, нмоль/хв·мг білка	cNOS, нмоль/хв·мг білка	iNOS, нмоль/хв·мг білка	Нітрит-аніон, мкмоль/г	L-аргінін, мкг/мл
Інтактні тварини (контроль), n=10	1,09 \pm 0,09	0,85 \pm 0,10	0,24 \pm 0,07	1,4 \pm 0,11	42,7 \pm 5,0
Виразковий коліт, n=10	2,57 \pm 0,33*	0,88 \pm 0,12	1,69 \pm 0,29*	2,36 \pm 0,21*	20,5 \pm 3,6*
Інгібування iNOS при коліті, n=10	1,59 \pm 0,22	0,66 \pm 0,15	0,93 \pm 0,10 [#]	1,67 \pm 0,05 [#]	31,7 \pm 3,8 [#]
Дія олії амаранту при коліті, n=10	1,13 \pm 0,12 ^{##}	0,53 \pm 0,10	0,61 \pm 0,07 ^{##}	1,64 \pm 0,17 [#]	24,9 \pm 3,6

Примітка. * – p<0,05 порівняно з показниками інтактних тварин; # – p<0,05, ## – p<0,01 порівняно з показниками тварин з колітом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алейникова Т. Л. Руководство к практическим занятиям по биохимии / Т. Л. Алейникова, Г. В. Рубцова. – М. : Высшая школа, 1988. – 239 с.
2. Інформ. лист Укрмедпатентінформ МОЗ України/ Визначення нітрит-аніону в слині, як специфічного маркера перебігу запального процесу / О. Я. Склярів, І. П. Федорович, Н. В. Фартушок. – 2004. – 118, 5.

3. Склярів О. Я. Зміни процесів ліпопероксидації та активності ферментів системи антиоксидантної захисту при введенні олії амаранту за умов експериментального виразкового коліту / О. Я. Склярів, Н. Б.Ковалик // Мед. хімія. – 2006. – 8, № 3. – С. 63–66.

4. Acute experimental colitis decreases colonic circular smooth muscle contractility in rats / B. S. Myers,

J. S. Martin, D. T. Dempsey [et al.] // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 1997. – **273**. – P. 928–936.

5. Aoi Y. Roles of nitric oxide and NO synthases in healing of dextran sulfate sodium-induced rat colitis / Y. Aoi, S. Terashima, M. Ogura // J. Physiol. Pharmacol. – 2008. – **59**, № 2. – P. 315–336.

6. Dietary modulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma / R. Marion-Letellier, P. Dechelotte, M. Lacucci [et al.] // Gut. – 2009. – **58**. – P. 586–593.

7. Effects of Highly Purified Eicosapentaenoic Acid on Erythrocyte Fatty Acid Composition and Leukocyte and Colonic Mucosa Leukotriene B₄ Production in Children With Ulcerative Colitis / Shimizu Toshiaki, Fujii Tohru, Suzuki Ryuyo [et al.] // J. of Ped. Gastr. & Nutr. – 2003. – **37**, № 5. – P. 581–585.

8. Fan Y. Y. Dietary (*n*-3) polyunsaturated fatty acids remodel mouse T-cell lipid rafts / Y. Y. Fan, D. N. McMurray, L. H. Ly // J. Nutr. – 2003. – **133**. – P. 1913–1920.

9. Kucharzik T. Recent understanding of IBD pathogenesis: implications for future therapies / T. Kucharzik, C. Maaser, A. Lugerling // Inflamm. Bowel Dis. – 2006. – **12**. – P. 1068–1083.

10. Lee J. Y. Differential modulation of Toll like receptors by fatty acids: preferential inhibition by *n*-3 polyunsaturated fatty acids / J. Y. Lee, A. Plakidas, W. H. Lee // J. Lipid Res. – 2003. – **44**. – P. 479–486.

11. Sklyarov A. Ya. Role of nitric oxide-synthase and cyclooxygenase/lipoxygenase systems in development of experimental ulcerative colitis / A. Ya. Sklyarov, N. B. Panasyuk, I. S. Fomenko // J. of Phys & pharm. – 2011. – **62**, № 1. – P. 65–73.

12. The influence of membrane fluidity, TNF receptor binding, cAMP production and GTPase activity on macrophage cytokine production in rats fed a variety of fat diets / P. S. Tappia, S. Ladha, D. C. Clark, R. F. Grimble // Mol. Cell Biochem. – 1997. – **166**. – P. 135–143.

13. Venkataranganna M. V. NCB-02 (standardized Curcumin preparation) protects dinitrochlorobenzene-induced colitis through down-regulation of NFκ-B and iNOS / M. V. Venkataranganna, M. Rafiq, S. Gopumadhavan // World J. Gastroenterol. – 2007. – **13**, № 7. – P.1103–1107.

Н. Б. Панасюк, А. Я. Скляр

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

ВЛИЯНИЕ АМАРАНТОВОГО МАСЛА НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ L-АРГИНИН/NO-СИНТАЗЫ/NO В ТОЛСТОЙ КИШКЕ ПРИ ЯЗВЕННОМ КОЛИТЕ

Резюме

В работе приведены данные о влиянии амарантового масла на состояние системы L-аргинин/NO-синтазы/NO при язвенном колите. Показано, что амарантовое масло, будучи многокомпонентным биологически активным веществом, снижает активность индуцибельной NO-синтазы и продукцию нитрогена оксида в слизистой оболочке толстой кишки и облегчает течение язвенного колита, причем его ингибиторная активность не меньше, чем у селективного блокатора iNO-синтазы – аминоганидина. Это позволяет рекомендовать амарантовое масло к применению у больных колитом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: язвенный колит, амарантовое масло, система L-аргинин/NO-синтазы/NO, аминоганидин.

N. B. Panasyuk, O. Ya. Sklyarov

DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

THE INFLUENCE OF AMARANTH OIL ON THE STATUS OF L-ARGININE/NO-SYNTASES/NO SYSTEM IN LARGE INTESTINE AT ULCERATIVE COLITIS

Summary

The paper presents data on the influence of amaranth oil on the status of L-arginine/NO-synthases/NO system in ulcerative colitis. We showed that amaranth oil, being multicomponent biological active substance, decreases the activity of iNO-synthase and NO production in the mucosa of the large intestine and has favourable impact on the course of the ulcerative colitis. Its inhibitory activity is lower than of the selective iNO-synthase blocker aminoguanidine. This gives predispositions to recommend amaranth oil for the treatment of patients suffering from colitis.

KEY WORDS: ulcerative colitis, amaranth oil, L-arginine/NO-synthases/NO, aminoguanidine.

Отримано 17.10.11

Адреса для листування: Н. Б. Панасюк, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.