

ВПЛИВ АГМАТИНУ НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЛЕЙКОЦИТІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Л. Дацюк*, У. Дацюк, Н. Сибірна

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: leonid.datsyuk@gmail.com*

Досліджено вплив агматину на активність ензимів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази), вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у лейкоцитах периферичної крові щурів за умов стрептозотоцин-індукованого діабету. Встановлено, що за розвитку експериментального діабету в імункомпетентних клітинах крові піддослідних тварин істотно знижена активність ензимів антиоксидантного захисту і значно підвищений вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Введення агматину призводить до зростання активності супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази в лейкоцитах периферичної крові тварин з експериментальним цукровим діабетом. Показано, що введення агматину тваринам зі стійкою гіперглікемією викликає не лише зростання активності ензимів антиоксидантної системи у лейкоцитах, а й запобігає зростанню рівня продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів – основного маркера розвитку оксидативних змін у цих клітинах.

Ключові слова: діабет, агматин, лейкоцити, система антиоксидантного захисту.

Цукровий діабет (ЦД) – одне з найпоширеніших хронічних захворювань, яке характеризується розвитком багатьох ускладнень, що призводять до ранньої втрати працездатності та смертності. В Україні зареєстровано понад 1,4 мільйона осіб, хворих на цукровий діабет, однак вважають, що кількість людей із цією недіагностованою патологією перевищує згаданий показник у 3-4 рази. Є два типи цього захворювання, причини їхнього виникнення різні, однак провідною ланкою у патогенезі обох типів ЦД є гіперглікемія.

Діабет I типу є аутоімунним захворюванням, він спричинений порушенням імунно-опосередкованого розпізнавання острівкових клітин підшлункової залози, що призводить до вивільнення прозапальних цитокінів і активних форм Оксигену та, як наслідок, до руйнування панкреатичних клітин острівків Лангерганса. Унаслідок посиленої активації проапоптичних сигнальних шляхів спостерігається поступова втрата здатності цієї залози до секреції інсуліну [20].

Діабет характеризується стрімким зростанням рівня вільних радикалів, підвищенням перекисного окиснення ліпідів, порушеннями механізмів антиоксидантного захисту, що призводить до руйнування клітинних органел і функціонування ензимів [13, 41].

Є кілька джерел продукції реактивних форм Оксигену за діабету як мітохондріального, так і немітохондріального походження. На фоні гіперглікемії посилене утворення реактивних форм Оксигену відбувається за рахунок чотирьох можливих молекулярних механізмів: збільшення потоку поліолового шляху (відомий також як сорбітол-альдозоредуктазний шлях), пришвидшення обміну гексозамінів, активація протеїнкінази C та нагромадження кінцевих продуктів глікозилювання. Вільні радикали також утворюються у великій кількості внаслідок дефіциту АДФ у мітохондріях, обумовленого пригніченням активності наявних у них транслокаторів аденінових нуклеотидів [42]. Підвищення вмісту

вільних або неестерифікованих жирних кислот за діабету I типу активізує цикл Кребса, відбувається посилена продукція ацетил КоА, що супроводжується утворенням надлишкової кількості відновлених НАД-еквівалентів [45].

У результаті надпродукції активних форм Оксигену, зокрема, таких як супероксид аніон, перекис Гідрогену та гідроксил радикал, відбувається посилене окиснення клітинних протеїнів, нуклеїнових кислот, мембранних ліпідів і, як наслідок, пошкодження їхніх структурно-функціональних властивостей [12] та розвиток у клітинах оксидативного стресу [24]. Відомо, що активні форми Оксигену здатні впливати на експресію генів, які кодують протеїни, що залучені до імунної відповіді, розвитку запальних процесів і клітинної загибелі [29].

Підвищена продукція супероксид аніона мітохондріальним електронтранспортним ланцюгом, спричинена гіперглікемією, як відомо, відіграє визначальну роль в активації протеїнкінази С, гексозоамінового й поліолового шляхів і прискоренні утворення кінцевих глікозильованих продуктів, які залучені в патогенез діабетичних ускладнень [6, 38].

У результаті проведених експериментальних і клінічних досліджень встановлено, що оксидативний стрес відіграє центральну роль на початкових етапах діабетичного захворювання, в ендотеліальних клітинах судин збільшує відтік гліколітичних інтермедіатів у патологічні метаболічні шляхи [3, 47] та спричиняє розвиток судинних і нейрологічних ускладнень цієї хвороби [37].

Більшість вільних радикалів за нормальних фізіологічних умов продукується клітинами в низьких концентраціях і нейтралізується ензиматичною та неензиматичною складовими антиоксидантною системи, зокрема, супероксиддисмутазою, каталазою, глутатіонпероксидазою та низькомолекулярними субстанціями, такими як глутатіон і вітаміни С та Е.

Супероксиддисмутаза (СОД) є першим ензимом антиоксидантного захисту, оскільки каталізує перетворення супероксиданіон радикалу в перекис Гідрогену [27]. Є дві ізоформи ензиму : Cu/Zn – СОД, яка виявлена в цитоплазмі та ядрі, та Mn-СОД, локалізована в основному в мітохондріях [39]. Низька активність Cu/Zn-СОД вважається раннім маркером схильності до діабетичних судинних захворювань [46]. В еритроцитах і крові хворих на діабет виявлено зниження активності ензиму [9, 40].

Каталаза, локалізована в пероксисомах, розкладає перекис Гідрогену до води та кисню. Показано, що в лімфоцитах хворих на діабет упродовж усіх фаз захворювання активність каталази була істотно вищою порівняно з контрольною групою. Найвища активність каталази спостерігалася на ранніх етапах захворювання, а далі поступово знижувалась [48]. Однак у роботі Dave зі співавторами (2007) представлено дані про різке зниження активностей каталази, глутатіонпероксидази, вмісту глутатіону та значне зростання концентрації тіобарбітурової кислоти позитивних продуктів у хворих на діабет I типу порівняно зі здоровими особами [19].

Se-залежна глутатіонпероксидаза (ГПО), локалізована в мітохондріях і лізосомах, забезпечує детоксикацію H_2O_2 та відновлення гідроперекисів як вільних, так і естерифікованих жирних кислот, захищає клітинні протеїни та мембрани від оксидативного пошкодження шляхом окиснення глутатіону. В літературі наявні суперечливі дані про активність ГПО у хворих на діабет. Так, у роботах [21, 36] опубліковано дані про зростання активності ГПО за даної патології. Водночас наявні дослідження, які вказують на зниження активності ензиму у хворих на діабет [22]. Є дані, згідно з якими жодних змін в активності ензиму за даного захворювання не виявлено [33]. Низька активність глутатіонпероксидази за перебігу захворювання пояснюється або низьким вмістом глутатіону, або інактивацією ензиму під дією потужного оксидативного стресу [24].

Глутатіонредуктаза регенерує окиснений глутатіон, використовуючи для цього НАДФН, чим забезпечує постійність його пулу. В еритроцитах хворих на діабет як у дорослих, так і у дітей виявлено зниження активності ензиму [44].

Ключовою ланкою в патогенезі аутоімунних захворювань, таких як діабет I типу, є порушення регуляції імунітету. Лейкоцити відіграють важливу роль у розвитку цього захворювання [7, 14, 28]. При задіянні механізмів аутоагресії за участі лейкоцитів відбувається руйнування β -клітин підшлункової залози, розвиваються судинні та нефротичні ускладнення ЦД.

Пошук препаратів, які здатні запобігати розвиткові оксидативного стресу, посилювати функціональний стан лейкоцитів і проявляють цукрознижувальний ефект за умов ЦД, є першочерговим у вирішенні проблеми профілактики й лікування цього захворювання та його ускладнень. У 80–90-х роках минулого століття було проведено низку експериментальних досліджень і виявлено цукрознижувальні властивості та з'ясовано окремі механізми дії агматину. Встановлено, що агматин проявляє модулюючу дію прямо та/або опосередковано на кілька ключових молекулярних мішеней, що лежать в основі механізмів контролю нормального функціонування клітин і є причиною виникнення діабету. Агматин здійснює прямий інсуліноподібний вплив, діючи на β -клітини острівців підшлункової залози та сприяючи вивільненню інсуліну [35, 43], зумовлює посилення секреції ендорфіну наднирниками через активацію імідазольних рецепторів, що призводить до збільшення клітинного поглинання глюкози [14, 30]. Застосування агматину у разі цукрового діабету пов'язане з інгібуванням утворення кінцевих продуктів глікозилювання [34]; підвищенням регенерації нервів і зменшенням больових відчуттів при діабетичній нейропатії [18]; збільшенням швидкості клубочкової фільтрації нирок [31].

Було показано, що агматин у наномолярних концентраціях проявляє протекторну дію на мітохондрії, знижуючи їхнє набрякання внаслідок оксидативного стресу, можливо, діючи як скевенджер вільних радикалів, і запобігає Ca^{2+} -залежній індукції зміни проникності мембрани шляхом модуляції мембранного потенціалу мітохондрій та активації NF- $\kappa\beta$ [8, 10, 17]. Перелічені механізми задіяні в апоптичній загибелі клітини. Тому роль агматину в захисті мітохондрій вважається однією з найважливіших у прояві загального цитопротекторного ефекту цієї сполуки на різні системи організму.

Тому метою нашої роботи було оцінити вплив введення агматину на стан системи антиоксидантного захисту в лейкоцитах периферичної крові щурів за умов експериментального цукрового діабету.

Матеріали і методи

Досліди були проведені на 25 білих безпородних щурах-самцях масою 120-130 г згідно з національними "Загальними етичними принципами проведення експериментів на тваринах", ухваленими Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001), що узгоджуються з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, Франція, 1985).

Тварини упродовж експерименту перебували у стаціонарних умовах віварію, мали вільний доступ до їжі та питної води.

Тварини були поділені на чотири групи: *перша* – контрольні тварини (К), *друга* – тварини, яким вводили агматин упродовж 14 днів (К + Агм), *третьа* – тварини зі стрептозотоциноіндукованим цукровим діабетом (СЦД), *четверта* – тварини зі СЦД, яким вводили агматин упродовж 14 днів (ЕЦД + Агм). Експериментальний ЦД викликали внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину ("Sigma", США), розчиненого в

10 мМ цитратному буфері (рН 5,5), з розрахунку 60 мг/кг маси тіла. Розвиток діабету контролювали за вмістом глюкози у крові з хвостової вени, який визначали через 72 год після введення стрептозотоцину. В експерименті використовували тварин із концентрацією глюкози більше 14 ммоль/л. Починаючи з 3-го дня від моменту індукції діабету тваринам внутрішньом'язово вводили агматин ("Sigma", США) у концентрації 20 мг/кг. Забій тварин здійснювали на 15-й день після підтвердження індукції діабету.

Лейкоцити периферичної крові отримували фракціонуванням крові у градієнті густини фікол-тріомбразу ($\rho=1,078$) [3]. Для дослідження використовували супернатант лізату клітин з концентрацією 10 млн/мл після подвійного заморожування і відтавання та центрифугування при 10 тис. об./хв. Визначення концентрації глюкози проводили глюкозооксидазним методом за допомогою набору «Глюкоза-Ф» (Фелісіт-Діагностика, Україна). Активність Cu,Zn-супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1) визначали за методом С. Чеварі та ін. [6], каталази (КФ 1.11.1.6) – М. А. Королук та ін. [2], глутатіонпероксидази (ГПО) (КФ 1.11.1.9) – В. М. Моїн [4], глутатіонредуктази (ГР) (КФ 1.6.4.2) – D. M. Goldberg, R. J. Spooner [26]. Вміст ТБК-позитивних продуктів (ТБК-ПП) визначали згідно з методом Р. А. Тимирбулатова, Є. І. Селезньової [5], концентрацію протеїну – за загальноприйнятим методом Лоурі [32].

Результати досліджень обробляли статистично з використанням програми Origin Pro. Відмінність досліджуваних показників вважалася статистично вірогідною при $P<0,05$.

Результати і їхнє обговорення

Введення агматину піддослідним тваринам (група К+А) не впливало на активність антиоксидантних ензимів, вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів і показники функціональних характеристик нейтрофільних гранулоцитів.

Як видно з результатів, представлених в табл. 1, гіперглікемія в експериментальних тварин супроводжувалася зниженням активності СОД у лейкоцитах периферичної крові на 35 % порівняно з контролем. Відомо, що зростання кількості вільних радикалів або активних метаболітів Оксигену, які здатні вступати в хімічні реакції з металами змінної валентності, є однією з причин інактивації ензимів, зокрема металовмісних. Тому зниження активності Cu, Zn-СОД часто пов'язують з окисненням атома Купруму [16] в активному центрі цього металопротеїду. При частковій інактивації СОД у піддослідних тварин зі стрептозотоциноіндукованим діабетом виявлено і різке зниження активності каталази на 42 % порівняно з контрольними показниками. Очевидно, що причиною зниження активності каталази є надлишок супероксиданіону, який за умов розвитку оксидативного стресу є потужним інгібітором каталази [1].

Окрім зниження активності визначальних ензимів антиоксидантного захисту, в лейкоцитах периферичної крові спостерігається зниження активності ГР на 26 % порівняно з контрольними показниками. Для відновлення глутатіону ГР використовує НАДФН як донора протонів. Відомо, що впродовж гіперглікемії активується поліоловий шлях утилізації глюкози, який використовує до 30-35 % її клітинного вмісту. При цьому глюкоза відновлюється до сорбітолу альдозоредуктазою з використання відновленого НАДФН. Виснаження концентрації відновних еквівалентів НАДФН спричиняє зниження регенерації окисненого глутатіону [23] глутатіонредуктазою, активність якої за діабету достовірно нижча від контрольних показників.

Одним із важливих маркерів інтенсивності оксидативного стресу є вміст кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів, зокрема, малонового діальдегіду, який ми визначали в реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК). За розвитку діабету в лейкоцитах

периферичної крові щурів виявлено зростання вмісту ТБК-позитивних продуктів на 52 % порівняно з показниками контрольних тварин.

Таким чином, виявлене зниження активності ключових ензимів системи антиоксидантного захисту і зростання вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів на 14-ту добу після розвитку гіперглікемії свідчить про виснаження захисних механізмів імункомпетентних клітин крові та розвиток у них оксидативного стресу.

Введення агматину на фоні розвитку діабету призводило до зростання активності СОД у лейкоцитах на 54 % порівняно з контролем і більше ніж удвічі порівняно з показниками хворих тварин. Активність каталази за умов введення агматину на фоні діабету залишалась у межах контрольних показників, однак порівняно з показниками групи тварин з експериментальним цукровим діабетом була в 1,4 разу вищою. Відомо, що каталаза розщеплює перекис Гідрогену при його нижчій концентрації, а при високій швидкості утворення перекису цю функцію виконує ГПО. Тому цілком закономірним є виявлене зростання активності ГПО у лейкоцитах хворих тварин, яким вводили агматин – на 67 % порівняно з контролем та в 1,4 разу порівняно з показниками тварин, хворих на діабет. Таке збільшення активності ГПО корелює зі зростанням активності ГР на 28 % порівняно з показниками контрольних тварин та в 1,7 разу порівняно з показниками щурів з діабетом I типу. Відомо, що глікозилювання ГР і СОД є однією з причин зниження їхньої активності за умов підвищеної концентрації глюкози [11].

Активність антиоксидантних ензимів і вміст ТБК–позитивних продуктів у лейкоцитах периферичної крові щурів за умов введення агматину на фоні експериментального цукрового діабету ($M \pm m$, $n=5-8$)

Умови експерименту	СОД, U/мг протеїну	Каталаза, мкмоль/хв мг протеїну	ГПО, мкмоль/хв мг протеїну	ГР, мкмоль/хв мг протеїну	ТБК, нмоль/млн клітин
Контроль	572,38±45,51	348,96±14,81	21,05±1,32	294,06±12,52	3,37±0,27
Контроль+Агм	532,56±39,99	303,51±27,25	19,02±1,60	260,43±20,54	3,23±0,18
ЕЦД	374,22±23,25*	246,21±18,29*	24,54±2,05	217,86±16,65*	5,12±0,40*
ЕЦД + Агм	880,71±54,24**	346,42±17,38 [#]	35,18±2,45* [#]	375,71±23,06* [#]	4,11±0,18 [#]

Примітки: * – достовірно порівняно з контролем ($P < 0,05$); [#] – достовірно порівняно з показниками тварин із діабетом ($P < 0,05$).

При визначенні вмісту ТБК-позитивних продуктів у групі тварин, яким вводили агматин на фоні гіперглікемії, виявлено лише тенденцію до зростання цього показника, що, очевидно, пов'язано з активацією ензимів антиоксидантної системи й ефективним знешкодженням вільнорадикальних сполук і продуктів їхнього подальшого перетворення.

В організмі існує декілька фізіологічних механізмів зниження внутрішньо- та позаклітинної концентрації глюкози: автоокиснення, неензиматичне глікозилювання протеїнів, зростання рівня похідних сполук перетворення глюкози – кінцевих продуктів глікозилювання і активація поліолового шляху. Однак наслідком посиленого і тривалого залучення цих механізмів є розвиток оксидативного стресу [25].

Використання агматину – сполуки, яка безпосередньо здатна коригувати рівень глюкози в організмі, сприяє якнайповнішому використанню антиоксидантного потенціалу імункомпетентних клітин крові, запобігає розвитку в них оксидативного стресу, знижуючи ризик виникнення ускладнень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Дубинина Е. Е., Шугалей И. В. Окислительная модификация белков // Усп. совр. биологии. 1993. Т. 113, вып.1. С. 71–81.
2. Королюк М. А., Иванова И. Г., Майорова И. Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–18.
3. Лаповець Л.Є., Луцик Б.Д. Посібник з лабораторної імунології. Львів, 2002. 173 с.
4. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. 1986. № 12. С. 124–126.
5. Тимирбулатов Р. А. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. 1981. № 4. С.209–211.
6. Чевари С., Андял Т. Д., Штиренгер Д. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в преклонном возрасте // Лаб. дело. 1991. № 10. С. 9–13.
7. Alba-Loureiro T.C, Hirabara S.M, Mendonca J.R et al. Diabetes causes marked changes in function and metabolism of rat neutrophils. // J. Endocrinol. 2006. 188. P. 295-303.
8. Arndt M.A. et al. The arginine metabolite agmatine protects mitochondrial function and confers resistance to cellular apoptosis. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2009. Vol. 296. P. 1411–1419.
9. Astaneie F., Afshari M., Mojtahedi A. et al. Total antioxidant capacity and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in blood and saliva of insulin-dependent diabetic patients. // Arch. Med. Res. 2005. Vol. 36. P. 376-381.
10. Battaglia V. et al. Agmatine prevents the Ca(2+)-dependent induction of permeability transition in rat brain mitochondria. // Amino Acids. 2010. 38. P.431–437.
11. Blakytny R., Harding J. J. Glycation (non-enzymic glycosylation) inactivates glutathione reductase. Biochem. J. 1992. Nov 15; 288 (Pt 1). P. 303-7.
12. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. // Nature. 2001. Vol. 414. P. 813-820.
13. Ceriello A. Oxidative stress and diabetes-associated complications. // Endocr. Pract. 2006. Vol. 12 (Suppl 1). P. 60-62.
14. Chanchamroen S., Kewcharoenwong C., Susaengrat W. et al. Human polymorphonuclear neutrophil responses to Burkholderia pseudomallei in healthy and diabetic subjects / S. Chanchamroen [et. al.] // Infect. Immun. 2009. № 77. P. 456–463.
15. Chang C.H. et al. Increase of beta-endorphin secretion by agmatine is induced by activation of imidazoline I(2A) receptors in adrenal gland of rats. // Neurosci. Lett. 2010. 468. P. 297–299.
16. Collison K.S., Parhar R.S., Saleh S.S. et al. RAGE-mediated neutrophil dysfunction is evoked by advanced glycation end products (AGEs). // J. Leukoc. Biol. 2002. Vol. 71. P. 433-444.
17. Condello S. et al. Agmatine effects on mitochondrial membrane potential and NF-kappaB activation protect against rotenone-induced cell damage in human neuronal-like SH-SY5Y cells. // J. Neurochem. 2011. Vol. 116. P. 67–75.
18. Courteix C. et al. Agmatine induces anti-hyperalgesic effects in diabetic rats and a superadditive interaction with D-CPP, a NMDA-receptor antagonist. // J. Pharmacol. Exper. Ther. 2007. 322. P.1237–1245.
19. Dave G.S., Kalia K. Hyperglycemia induced oxidative stress in type-1 and type-2 diabetic patients with and without nephropathy. // Cell Mol. Biol. 2007. Vol. 53. P. 68-78.
20. Delmastro M.M., Piganelli J. D. Oxidative stress and redox modulation potential in type 1 diabetes. Clin Dev Immunol. 2011. Vol. 1. 15 p.
21. Djordjevic A., Spasic S., Jovanovic-Galovic A. et al. Oxidative stress in diabetic pregnancy: SOD, CAT and GSH-Px activity and lipid peroxidation products. // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. 2004. Vol. 16. P. 367-372.

22. *Dominguez C., Ruiz E., Gussinye M., Carrascisa A.* Oxidative stress at onset and in early stages of type I diabetes in children and adolescents. // *Diabetes Care.* 1998. Vol. 21. P. 1736-1742.
23. *McGrowder D. A., Anderson-Jackson L., Crawford T. V.* Biochemical Evaluation of Oxidative Stress in Type 1 // *Diabetes Book Chapter Biochemical Evaluation of Oxidative Stress in Type 1 Diabetes* Ed. by Escher A. P. and Li A.: In Tech. 2013, February 2.
24. *Elejalde G. J. I.* Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment *An. Med. Interna.* 2001 Jun. 18(6). P. 326-35.
25. *Faure P., Benhamou P.Y., Perard A.* et al. Lipid peroxidation in insulin dependent diabetic patients with early retina degenerative lesions: Effects of an oral zinc supplementation. // *Eur. J. Clin. Nutr.* 1995. Vol. 49. P. 282-288.
26. *Goldberg D. M., Spooner R. J., Bergmeyer H. U.* Glutathione reductase // *Methods of Enzymatic Analysis.* 3rd ed. Weinheim. : Verlag Chemie 1983. Vol. 3. P. 258-265.
27. *Halliwel B.* Free radicals, antioxidants, and human disease: cause or consequence? // *Lancet.* 1994. Vol. 344. P. 721-724.
28. *Hatanaka E., Monteagudo P.T., Marrocos M.S., Campa A.* Neutrophils and monocytes as potentially important sources of proinflammatory cytokines in diabetes // *Clin. Exp. Immunol.* 2006. Vol. 146. P. 443-447.
29. *Ho E., Bray T.M.* Antioxidants, NFkappaB activation, and diabetogenesis. // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1999. Vol. 222. P. 205-213.
30. *Lee J.P.* et al. Metformin can activate imidazoline I-2 receptors to lower plasma glucose in type 1-like diabetic rats. // *Horm. Metab. Res.* 2011. Vol. 43. P. 26-30.
31. *Lortie M.J.* et al. Agmatine, a bioactive metabolite of arginine. Production, degradation, and functional effects in the kidney of the rat. // *J. Clin. Invest.* 1996. Vol. 97. P. 413-420.
32. *Lowri O., Rosenbraugh M., Pori A.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // *Biol. Chem.* 1951. Vol. 193. N 1. P. 265-275.
33. *Majchrzak A., Zozulińska D., Wierusz-Wysocka B.* Evaluation of selected components in antioxidant systems of blood in patients with diabetes. // *Pol. Merkur. Lekarski.* 2001. Vol. 10. P. 150-152.
34. *Marx M.* et al. Agmatine and spermidine reduce collagen accumulation in kidneys of diabetic db/db mice. *Nephron.* 1995. Vol. 69. P. 155-158.
35. *Molderings G. J., Haenisch B.* Agmatine (decarboxylated L-arginine): physiological role and therapeutic potential. *Pharmacol Ther.* 2012. Mar. Vol. 133(3). P. 351-65.
36. *Ndahimana J., Dorchy H., Vertongen, E.C.* Erythrocyte and plasma antioxidant activity in type I diabetes mellitus. // *Press Med.* 1996. Vol. 25. P. 188-192.
37. *Niedowicz D., Daleke D.* The role of oxidative stress in diabetic complications. // *Cell Biochem. Biophys.* 2005. Vol. 43. P. 289-330.
38. *Nishikawa T., Edelstein D., Du X.* et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycemic damage. // *Nature.* 2000. Vol. 404. P. 787-790.
39. *Reiter R.J., Tan D.X., Osuna C., Gitto E.* Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *J. Biomed. Sci.* 2000. Vol. 7. P. 444-458.
40. *Reznick A.Z., Shehadeh N., Shafir Y., Nagler R.M.* Free radicals related effects and antioxidants in saliva and serum of adolescents with Type 1 diabetes mellitus. // *Arch. Oral. Biol.* 2006. Vol. 51. P. 640-648.
41. *Rodiño-Janeiro B.K., González-Peteiro M., Uceda-Somoza R.* et al. Glycated albumin, a precursor of advanced glycation endproducts, up-regulates NADPH oxidase and enhances oxidative stress in human endothelial cells: molecular correlate of diabetic vasculopathy // *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2010. Vol. 26. P. 550-558.

42. *Rolo A.P., Palmeira C.M.* Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2006. Vol. 212. P. 167-178.
43. *Shepherd R.M.* et al. Elevation of cytosolic calcium by imidazolines in mouse islets of Langerhans: implications for stimulus–response coupling of insulin release. // *Br. J. Pharmacol.* 1996. 119. P. 911–916.
44. *Stahlberg M.-R., Hietanen E.* Glutathione and glutathione-metabolizing enzymes in the erythrocytes of healthy children and in children with insulin-dependent diabetes mellitus, juvenile rheumatoid arthritis, coeliac disease and acute lymphoblastic leukaemia. // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1991. Vol. 51. P. 125-130.
45. *Steinberg H.O., Baron A.D.* Vascular function, insulin resistance and fatty acids. // *Diabetologia.* 2002. Vol. 45. P. 623-634.
46. *Suys B., de Beeck L.O., Rooman R.* et al. Impact of oxidative stress on the endothelial dysfunction of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: protection by superoxide dismutase? // *Pediatr. Res.* 2007. Vol. 62. P. 456-461.
47. *Turk Z.* Glycotoxines, carbonyl stress and relevance to diabetes and its complications. // *Physiol. Res.* 2010. Vol. 59. P. 147-156.
48. *Zivić S., Vlaski J., Kocić G.* et al. The importance of oxidative stress in pathogenesis of type 1 diabetes–determination of catalase activity in lymphocytes of diabetic patients. // *Med. Pregl.* 2008. Vol. 61. P. 458-463.

*Стаття: надійшла до редакції 22.07.16
доопрацьована 2.09.16
прийнята до друку 5.09.16*

ВЛИЯНИЕ АГМАТИНА НА СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЛЕЙКОЦИТОВ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Л. Дацюк, У. Дацюк, Н. Сибирная

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: datsyuk.leonid@gmail.com*

Исследовано влияние агматина на активность ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы), содержание продуктов перекисного окисления липидов в лейкоцитах периферической крови крыс при стрептозотоцин-индуцированом диабете. Установлено, что при развитии диабета в иммунокомпетентных клетках крови подопытных животных существенно снижена активность ферментов антиоксидантной защиты и значительно повышено содержание продуктов перекисного окисления липидов. Внутримышечное введение агматина приводит к возрастанию активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в лейкоцитах периферической крови животных с экспериментальным сахарным диабетом. Показано, что введение агматина животным со стойкой гипергликемией вызывает не только возрастание активности ферментов антиоксидантной защиты в лейкоцитах, но и препятствует возрастанию уровня продуктов свободнорадикального окисления липидов – основного маркера развития оксидативных изменений в этих клетках.

Ключевые слова: диабет, агматин, лейкоциты, система антиоксидантной защиты.

**THE EFFECT OF AGMATINE ON ENZYMATIC ANTIOXIDANT DEFENSE
SYSTEM AND FUNCTIONAL STATE OF RATS LEUKOCYTES UNDER
EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS**

L. Datsyuk, U. Datsyuk, N. Sybirna

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevsky St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: datsyuk.leonid@gmail.com*

The aim of the work was to investigate the effect of agmatine on the activity of antioxidant system enzymes (superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GPX) and glutathione reductase (GSR)), to intensify the level of lipids peroxidation (TBA-RS) in rats peripheral blood leukocytes under the experimental DM (EDM). The administration of agmatine not cause the deviation of indicators in healthy animals *compared to control*. The activity of SOD, GSR, catalase *decreased* and the content of TBA-RS increased compared to control. Whereas agmatine treatment of animals caused an increase of SOD activity more than twofold, GPX in 1,4 times, GSR in 1,7 times, normalization of catalase activity and decrease in TBA-RS content compared to indicators of animals with EDM. It was shown that agmatine treatment under hyperglycemia removed effective functioning of antioxidant defense system.

Keywords: diabetes mellitus, agmatine, leukocytes, antioxidant system protection.