



УДК 616.348-002-092.9-092:(612.015.11+612.017)

ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЕНЗИМІВ НА ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ L-АРГІНІН/NO ТА ІМУНОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ У КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КОЛІТУ

О. П. Хаврона, Л. П. Білецька

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна
e-mail: o.khavrona@gmail.com*

Встановлено, що у крові щурів за умов експериментального оцтового коліту відбуваються значні зміни у функціонуванні системи L-аргінін/NO та імунологічні порушення. Корекцію виявлених порушень проводили за допомогою інгібіторів прозапальних ензимів: селективного інгібітора COX-2 та подвійного селективного блокатора COX-2/5-LOX. У сироватці крові тварин визначали активність NO-синтази і аргінази, вміст L-аргініну та NO за допомогою Stat Fax і концентрацію ЦІК, IL-1 β та TNF- α імуноферментним аналізом. Встановлено, що при експериментальному коліті активується NO-синтазний шлях перетворення L-аргініну (це призводить до надмірного утворення нітрогену оксиду) та знижується використання L-аргініну по аргіназному шляху (на це вказує зниження активності аргінази). Виявлено значне підвищення рівня ЦІК, а також IL-1 β та TNF- α , що може вказувати на посилення судинного тону, погіршення мікроциркуляції, гіпоксії та розвиток оксидативного стресу. За умови використання інгібіторів прозапальних ензимів знижується гіперпродукція NO і нормалізуються імунологічні показники крові, що доводить пригнічення патологічного процесу. Більш виражений ефект тут спостерігається у разі застосування подвійного інгібітора COX-2/5-LOX.

Ключові слова: експериментальний коліт, L-аргінін, аргіназа, NO-синтаза, циркулюючі імунні комплекси, інтерлейкіни.

ВСТУП

Виразковий коліт (ВК) є одним із найбільш розповсюджених гастроентерологічних захворювань, етіологія і патогенез якого дотепер залишаються не до кінця з'ясованими, а лікування часто є малоефективним [3]. Відомо, що у виникненні коліту, поряд із явищами дисбактеріозу, кишечною дисмоторикою, важлива роль відводиться недостатній імунній регуляції, дисбалансу процесів перекисного окиснення ліпідів – антиоксидантного захисту і порушенням мікроциркуляції. Вірусною або бактеріальною причиною можна пояснити лише гострий початок захворювання,

а пояснення хронічного перебігу хвороби слід шукати саме в імунологічних порушеннях. Недостатність імунної регуляції призводить до неконтрольованих відповідей на різноманітні агенти, що, у свою чергу, обумовлює місцеве ушкодження тканин і розвиток локального запалення. Подальший розвиток запальних реакцій спричинює порушення бар'єрної функції слизової оболонки товстої кишки, зростання її проникності для макромолекул і антитіл, змінюються кровоплин та секреція води й електролітів, підвищується інфільтрація слизової оболонки товстої кишки нейрофілами та виділення ними прозапальних інтерлейкінів (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF), лейкотрієнів, активних форм кисню, адгезивних молекул [3, 8, 18]. Розвиток ВК супроводжується зміною активності NO-синтазної системи – різко зростає активність індукцибельної NO-синтази (iNOS) і, відповідно, вміст нітрогену оксиду (NO) [5, 13]. На сьогоднішній день досить інтенсивно вивчається участь NO у патогенезі захворювань органів травного каналу [12, 15]. Результати останніх років дали можливість припустити, що надмірна кількість NO проявляє цитотоксичні властивості і є однією з причин розвитку виразки шлунка, хронічного гастриту, виразкового коліту, онкопатології, бактеріальних гастроентеритів [11]. Проте на даний момент немає єдиної думки про участь різних ланок системи нітрогену оксиду в механізмах розвитку і загоєння уражень слизових оболонок травного каналу щурів.

Останнім часом значний інтерес викликають дослідження препаратів, які є інгібіторами прозапальних ферментів, що спричинюють активацію та підвищення кількості медіаторів запальних процесів. До таких інгібіторів належать, зокрема, целекоксиб – високоселективний інгібітор циклооксигенази-2 (COX-2) та дарбуфелон – нестероїдний протизапальний препарат подвійної дії, здатний інгібувати як циклооксигеназу-2, так і 5-ліпооксигеназу (LOX-5). Дарбуфелон створений з метою досягнути протизапального ефекту класичних нестероїдних протизапальних препаратів, але дає змогу уникнути побічних дій останніх, насамперед негативного впливу на шлунково-кишковий тракт і серцево-судинну систему [21]. Отже, залишається актуальним подальше дослідження аспектів патогенезу ВК і пошук нових ефективних лікарських засобів із цитопротекторними властивостями.

Виходячи з вищесказаного, метою роботи було вивчити вплив інгібітора COX-2 і подвійного інгібітора COX-2/5-LOX на функціонування системи L-аргінін/NO та імунологічні показники у крові щурів за умов експериментального коліту (ЕК).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на статевозрілих білих безпородних щурах-самцях середньою масою 180–220 г у відповідності до Хельсінської декларації (Всесвітня медична асамблея, 1964), Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Декларації принципів толерантності (28 сесія ЮНЕСКО, 1995), Універсальної декларації з біоетики та прав людини (ООН, 1997), норм Конвенції про захист прав людини у зв'язку з впровадженням нових біомедичних технологій, прийнятою у 1997 р. у м. Ов'єдо (Іспанія) та підписаною Верховною Радою України у 2002 р., Закону України № 3447 IV “Про захист тварин від жорстокого поводження” (Протокол № 2 від 16.02.2015 засідання комісії з питань біоетики ЛНМУ імені Данила Галицького).

Щурів утримували на стандартному раціоні віварію, під час проведення дослідів тварин брали натще, забезпечуючи безперешкодний доступ тварин до води. Усіх

тварин було поділено на чотири групи. До першої групи увійшли 12 інтактних щурів, до другої – 15 щурів з ЕК, який викликали перректальним введенням 1 мл 4% оцтової кислоти. Наявність ЕК підтверджували морфологічними дослідженнями. Третя група складалася з 15 тварин, яким на тлі ЕК вводили целекоксиб у дозі 10 мг/кг. До четвертої групи увійшли 15 щурів, яким на тлі ЕК вводили 2-аміно-5-(3,5-дитертбутил-4-гідроксибензиліден)-тіазол-4-один (2A5DHT) у дозі 10 мг/кг, який за своєю структурою ідентичний селективному блокаторові COX-2/5-LOX дарбуфелону. Речовини вводили перорально за 15 хв до моделювання коліту. Декапітацію тварин проводили на 2-й день розвитку патологічного стану на тлі уретанового знечуження (1,1 мг/кг). Активність NO-синтаз визначали за методом В.В. Сумбаєва [19], вміст NO²⁻ – за методом L.C. Green [7], концентрацію L-аргініну – за методом М. Храмова [1], активність аргінази – за методом J.W. Geyer [6], концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) – за методом Л. Є. Лаповець і Б. Д. Луцик [10], рівні IL-1 β та TNF- α – методом імуноферментного аналізу. Об'єктом дослідження була сироватка крові. Результати оброблено методом варіаційної статистики з використанням програмного забезпечення ANOVA з визначенням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Проведені дослідження довели, що розвиток ЕК супроводжується значними порушеннями у функціонуванні системи L-аргінін/NO.

Таблиця 1. Зміни показників системи L-аргінін/NO за умов ЕК та у разі застосування інгібіторів прозапальних ензимів (M \pm m; n = 12–15)

Table 1. Changes of the indicators of L-arginine/NO system under the experimental colitis and use of inflammatory enzyme inhibitors (M \pm m; n = 12–15)

Показники	Контроль	ЕК	ЕК + целекоксиб	ЕК + 2A5DHT
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	15,30 \pm 2,19	26,01 \pm 1,35*	21,68 \pm 0,89#	20,01 \pm 1,23#
L-Аргінін, мкмоль/мл	42,90 \pm 6,01	28,60 \pm 0,85*	30,12 \pm 0,23#	40,04 \pm 0,56#
Аргіназа, мкмоль/хв мг	0,31 \pm 0,03	0,18 \pm 0,02*	0,23 \pm 0,01#	0,20 \pm 0,02
eNOS, мкмоль/хв мг	24,60 \pm 3,04	21,68 \pm 0,34	28,18 \pm 0,87#	32,52 \pm 0,98#
iNOS, мкмоль/хв мг	6,17 \pm 0,89	74,04 \pm 2,12**	56,95 \pm 1,89#	43,55 \pm 1,76#
NOS, мкмоль/хв мг	39,27 \pm 4,23	153,16 \pm 5,78**	127,63 \pm 4,34#	109,39 \pm 4,09#

Примітки: * – P<0,05; ** – P<0,001 щодо контрольної групи; # – P<0,05 щодо групи з ЕК

Comments: * – P<0.05; ** – P<0.001 compared with the control group; # – P<0.05 compared with a group of experimental colitis

Концентрація стабільних метаболітів нітрогену оксиду, які можуть відображати рівень пероксинітриду в сироватці крові наведена у табл. 1. Встановлено, що вміст нітрит-аніона зростає у групі тварин із модельованим колітом у 1,7 разу порівняно з контролем. Проте його концентрація у групах тварин, яким вводили досліджувані препарати, знижувалася порівняно з тваринами другої групи – у третій групі в 1,2 разу, у четвертій – в 1,3 разу.

Нітрогену оксид належить до активних метаболітів кисню. За патологічних станів NO, що утворюється у надмірній кількості, має виражену цитотоксичну дію внаслідок утворення пероксинітриду, який здатний до деструкції практично всіх

компонентів клітини [13–15]. Пошкоджувальна дія нітрогену оксиду проявляється за участю кількох механізмів, оскільки токсичним агентом може виступати як сам NO, так і продукти його перетворення. Внутрішньоклітинні мішені оксиду нітрогену – мембрани та білки, що відповідають за транспорт речовин і передачу сигналу, мітохондрії, ядра. Нітрогену оксид активно зв'язується з Fe-S центрами різних білків і блокує важливі внутрішньоклітинні процеси, зокрема, утворення АТФ, синтез ДНК та поділ клітини [13]. Оскільки нітрогену оксид – потужний вазодилататор, то надмірні кількості NO можуть призводити до значного розслаблення судин слизових оболонок травного каналу, унаслідок чого порушується їх кровопостачання, що може бути однією з причин розвитку деструктивних уражень [5, 12, 18].

Зростання продукції стабільних метаболітів нітрогену оксиду підтверджується зростанням активності NO-синтази, що ми спостерігали у наших дослідженнях (табл. 1). Встановлено, що сумарна активність даного ферменту у тварин другої групи зростає у 3,9 разу порівняно з контролем. Висока сумарна активність NO-синтази у тварин з ЕК, імовірно, пояснює зростання концентрації нітрит-аніона при зниженій концентрації вільного L-аргініну. Проте у тварин третьої та четвертої груп вона знижується порівняно з другою групою в 1,2 разу та в 1,4 разу, відповідно.

Окрім сумарної, визначали також активність ізоферментів NO-синтази – ендотеліальної та індуцибельної NO-синтаз. Зокрема, що активність індуцибельної NO-синтази зростала приблизно у 12 разів у тварин другої групи порівняно з контролем. Проте за умови селективного блокування COX-2 і подвійного блокування COX-2/5-LOX її активність знижується в 1,3 разу (3 група) і в 1,7 разу (четверта група). Такі результати можуть свідчити про високий вміст прозапальних цитокінів, які стимулюють активність цього ферменту, особливо у тварин другої групи, та зниження їхньої концентрації у разі пригнічення запалення [11].

Активність ендотеліальної NO-синтази у тварин другої групи достовірно не відрізнялася від контрольних величин, проте зростала у тварин третьої та четвертої груп у 1,3 разу та 1,5 разу відповідно порівняно з тваринами з ЕК. Імовірно, введення досліджуваних речовин сприяє активації eNOS, що вказує на посилення механізмів локальної ендотеліальної цитопротекції та підтримання гомеостазу судин [15].

Відомо, що обмін L-аргініну може здійснюватися в організмі шляхом окисного перетворення за участю NOS до NO та L-цитруліну і неокисного – за участю аргінази до сечовини й орнітину. Співвідношення між цими ензимами забезпечує у клітинах певний фізіологічний пул L-аргініну, а також генерацію активних форм нітрогену [2].

L-аргінін є вихідною сполукою для синтезу сечовини, багатьох білків та нітрогену оксиду, ця амінокислота при необхідності виконує функцію антиоксидантного захисту [20]. Встановлено, що у тварин другої групи його концентрація знизилась у 1,5 разу порівняно з контролем, що може свідчити про вичерпання запасів ендогенного аргініну у зв'язку з активацією окисного шляху його метаболізму та гіперпродукцією NO. Виявлені порушення можна вважати одними з ключових чинників розвитку деструктивних ушкоджень слизової оболонки товстої кишки при коліті, а локальне порушення слизового бар'єру є однією з причин подальшого розвитку запального процесу.

У тварин третьої групи концентрація L-аргініну недостовірно зростала, проте у четвертій групі вона зросла в 1,4 разу порівняно з другою групою тварин. У разі введення досліджуваних препаратів підвищувався вміст L-аргініну у сироватці крові, причому застосування речовини 2A5DHT наближало його до контрольних величин.

Оскільки L-аргінін є субстратом NOS і аргінази, було важливо дослідити, як змінюється співвідношення окисного та неокисного шляхів метаболізму цієї амінокислоти за умов розвитку ЕК. Фізіологічна роль аргінази та її участь у численних метаболічних перетвореннях свідчить, що вона належить до важливої ланки в розвитку багатьох патологічних станів організму [14]. У наших дослідженнях при ЕК активність аргінази знижується в 1,7 разу (табл.1). Зниження активності аргінази вказує на те, що за умов ЕК пригнічується неокисний шлях метаболізму L-аргініну. Введення селективного інгібітора COX-2 (целекоксиб) сприяло підвищенню активності аргінази в 1,3 разу порівняно з тваринами другої групи, що можна пояснити збільшенням доступності L-аргініну для цього ензиму внаслідок інгібування NOS. Введення подвійного інгібітора COX-2/5-LOX (речовини 2A5DHT) вірогідно не змінювало активність аргінази.

Одним з індикаторів стану імунного статусу організму та розвитку аутоімунних процесів є рівень циркулюючих імунних комплексів у крові. За фізіологічних умов утворення та наявність ЦІК у рідинах є одним із проявів імунної відповіді організму на надходження антигенів і важливим чинником, що забезпечує імунітет [16]. Проведені нами дослідження встановили, що за умов ЕК кількість ЦІК зросла у 2,9 разу (табл. 2).

Таблиця 2. Зміни імунологічних показників за умов ЕК та у разі застосування інгібіторів прозапальних ензимів (M±m; n = 12–15)

Table 2. Changes in immunological parameters under the experimental colitis and use of inflammatory enzyme inhibitors (M±m; n = 12–15)

Показники	Контроль	ЕК	ЕК + целекоксиб	ЕК + 2A5DHT
ЦІК, ООГ/мл	0,57±0,11	1,65±0,09*	0,92±0,23#	0,72±0,09#
IL-1β, пг/мл	15,6±0,81	39,00±0,57*	21,67±0,64#	18,57±0,55#
ФНП-α, пг/мл	12,50±1,42	42,56±2,05*	17,02±1,23#	19,35±0,88#

Примітки: * – P<0,05 щодо контрольної групи; # – P<0,05 щодо групи з ЕК

Comments: * – P<0.05 compared with the control group; # – P<0.05 compared with a group of experimental colitis

За патологічних умов в організмі утворені імунні комплекси певний час циркулюють у лімфі та крові, після чого відбувається їхня часткова елімінація. Проте тривала циркуляція підвищеної кількості ЦІК у рідинах організму призводить до накопичення їх у тканинах, що запускає ланцюг біохімічних змін, які започатковують аутоімунні захворювання (до них належить, зокрема, коліт). Найбільшу патогенність мають середньомолекулярні імунні комплекси. Вони відкладаються у стінках мікросудин, активують комплемент за альтернативним механізмом, тому сприяють підвищенню проникності мікросудин і порушенню мікрогемодинаміки [17]. Дослідженнями останніх років переконливо доведено, що цитокіни є найважливішою ланкою в регуляції імунної системи кишечника. Саме тому однією з найважливіших причин виникнення виразкового коліту вважають порушення балансу між про- і антизапальними інтерлейкінами в бік підвищення концентрації прозапальних. На основі даних про порушення цього балансу розробляють навіть антицитокінову терапію. На сьогоднішній день відомо, що ІЛ-1β одним із перших включається в реакцію організму на дію патогенних чинників і розвиток запального процесу

в кишечнику. Розвиток коліту супроводжувався значним підвищенням у сироватці крові рівня прозапального цитокіну – ІЛ-1 β у 2,5 разу. Надмірний синтез ІЛ-1 β може сприяти інтенсивному наростанню пулу проліферуючих клітин і розвитку диспластичних змін кишкового епітелію, при цьому його рівень корелює з активністю запального процесу та ступенем ушкодження слизової оболонки [4,9]. ФНП- α вважається потужним модифікатором запальної та імунної реакції. Він здатний гальмувати клітинну проліферацію, диференціювання та функції практично всіх клітин, зокрема, ендотеліальних клітин слизової оболонки кишечника [8]. При експериментальному коліті ми відзначали значне зростання ФНП у 3,4 разу, що може вказувати на підвищення проникності капілярів і пошкодження ендотелію судин [4].

Введення целекоксибу позитивно впливало на досліджувані показники імунних процесів: знижувалися концентрація ЦІК в 1,8 разу та вміст ІЛ-1 β та – TNF- α у 1,8 та 2,5 разу відповідно. У разі застосування дарбуфелону імунологічні показники поверталися майже до вихідного рівня: знижувалися концентрація ЦІК у 2,3 разу та вміст ІЛ-1 β і TNF- α у 2,1 та 2,2 разу відповідно.

ВИСНОВКИ

1. При ЕК порушується співвідношення NO-синтазного й аргіназного метаболізму L-аргініну на тлі активації окисного шляху, що експериментально підтверджується підвищенням активності iNOS на тлі одночасного зниження активності аргінази.
2. Активація окисного шляху метаболізму L-аргініну призводить до нагромадження великої кількості нітрогену оксиду.
3. У разі введення целекоксибу – селективного інгібітора COX-2 – знижується активність iNOS і підвищується активність аргінази.
4. Введення подвійного інгібітора COX-2/5-LOX інгібує активність iNOS, знижуючи рівень NO та пероксинітриту, що зменшує їх токсичний вплив на організм. Активність аргінази за цих умов суттєво не змінюється.
5. Підвищення рівня ЦІК, ІЛ-1 β та TNF- α може сприяти посиленню судинного тону, погіршенню мікроциркуляції, гіпоксії та розвитку оксидативного стресу.
6. Більш виражений ефект щодо нормалізації порушень у функціонуванні системи L-аргінін/NO та імунологічних показників спостерігається у разі застосування подвійного інгібітора COX-2/5-LOX.

1. *Aleinikova T.L., Rubtseva G.V., Pavlova N.A. Guide to practical training in biochemistry.* Moscow: Medicine, 2000. 128 p. (In Russian).
2. *Brodyak I.V., Sybirna N.O.* Features L-arginine metabolism in blood leucocytes under the experimental diabetes. **Physiological Journal**, 2008; 54(1): 63–68. (In Ukrainian).
3. *Danese S., Fiocc C.* Ulcerative colitis. **The New England Journal of Medicine**, 2011; 365: 1713–1725.
4. *Egorova S.J.* The role of cytokine immunoregulation link in the formation endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases of intestines. **Medical Journal of Bukovina**, 2011; 15(2): 189–192. (In Ukrainian).
5. *Fomenko I.S., Sklyarov P.A., Panasyuk N.B.* et al. Changes in activity of NO-synthase system and arginase in colon mucosa blocking inflammatory enzymes under the experimental colitis. **Taurian Medical and Biological Journal**, 2012; 15(3): 361–363. (In Ukrainian).

6. Geyer J.W., Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. **Anal. Biochemistry**, 1971; 39(2): 412–417.
7. Green L.C., David A.W. Analysis of nitrate, nitrite and (1515) nitrate in biological fluids. **Anal. Biochemistry**, 1982; 126: 131–138.
8. Kaser A., Blumberg R.S. Autophagy, microbial sensing, endoplasmic reticulum stress, and epithelial function in inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, 2011; 140(6): 1738–1747.
9. Konovich E.A., Khalif I.L., Shapina M.V. Immunopathogenesis inflammatory diseases of intestines. **Russian Journal Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology**, 2013; 23(4): 69–78. (In Russian).
10. Lapovets L.E., Lutsyk B.D. **Laboratory Immunology**. Kyiv, 2004. 132 p. (In Ukrainian).
11. Maksimovich Y.S., Drobinska O.V., Ostapchenko L.I. The role of nitric oxide synthase isoforms in ulcerogenesis. **Physics Living**, 2008; 16(1): 130–134. (In Ukrainian)
12. Martin M. J., Jimenez M. D., Motilva V. New issues about nitric oxide and its effects on the gastrointestinal tract. **Current Pharmaceutical Design**, 2001; 7: 881–908.
13. Netyuhaylo D.G., Kharchenko S.V. Reactive oxygen species (literature review). **Young Scientist**, 2014; 9(12): 131–134. (In Ukrainian).
14. Peretyatko Y.V., Sybirna N.O. Features arginase and NO-synthase pathways of metabolism of L-arginine in peripheral blood leukocytes of rats by chronic x-ray exposure. **Ukrainian Biochemical Journal**, 2009; 81(2): 40–48. (In Ukrainian).
15. Sibilja V., Pagani F., Rindi G. Central ghrelin gastroprotection involves nitric oxide/prostaglandin cross-talk. **British Journal of Pharmacology**, 2008; 154 (3): 688–697.
16. Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis of infectious and non-infectious human diseases (Review). **Medical Academic Journal**, 2013; 13(3):18–41. (In Russian).
17. Sheibak V.M., Pavlyukovets A.Y. Arginine and the immune system – the possible mechanisms of interaction. **Journal of RSMU**, 2013; 12(1): 66–13. (In Russian).
18. Sklyarov O.Y., Panasyuk N.B., Jura O.R. The role of NO-synthase system and processes of lipid peroxidation in cell protective mechanisms in conditions ulcerogenic colitis. **Experimental and Clinical Physiology and Biochemistry**, 2009; 1: 38–45. (In Ukrainian).
19. Sumbaev V.V., Yasinskaya I.M. DDT Influence on activity of nitric oxide synthase in the liver, lung and brain of rats. **Modern Problems of Toxicology**, 2000; 3: 3–7. (In Russian).
20. Wu G., Bazer F.W., Davis T.A. et al. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. **Amino Acids**, 2009; 37(1): 153–168.
21. Zimenkovsky B.S., Lesik R.B. **4 thiazolidones. Chemistry, physiological performance and prospects**. Vinnytsia: New Book, 2004. 106 p. (In Ukrainian).

THE EFFECT OF PROINFLAMMATORY ENZYMES INHIBITORS ON FUNCTIONING OF L-ARGININE/NO SYSTEM AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN BLOOD OF RATS UNDER THE EXPERIMENTAL COLITIS

O. Khavrona, L. Byletska

*Danylo Halytsky Lviv National Medical University, 69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine
e-mail: o.khavrona@gmail.com*

It was shown that under the experimental colitis in rats' blood significant changes in the functioning of the system of L-arginine / NO and immunological disorders took place. A correction of violations was carried out by pro-inflammatory enzyme inhibitors, such as selective inhibitor COX-2 and dual selective blocker COX-2/5-LOX. The activity of NO-synthase and arginase, the content of L-arginine and nitrite-anion in animals' blood were determined using Stat Fax; concentration of circulating immune complexes, such as IL-1 β and TNF- α , were measured by the immuno-enzymatic methods. A significant increase in

СІС, IL-1 β and TNF- α was demonstrated. This can contribute to an increase in vascular tone, deterioration of microcirculation, hypoxia and development of oxidative stress. It was shown that NO hyperproduction is decreased at using inhibitors of pro-inflammatory enzymes and the effect of investigated medication had a positive correcting impact on the organism, reducing the overproduction of NO and normalizing immunological parameters of blood. More pronounced effect was observed in the case of using a dual inhibitor of COX-2/5-LOX.

Keywords: experimental colitis, L-arginine, arginase, NO-synthase, circulating immune complexes, interleukins.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЭНЗИМОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ L-АРГИНИН/NO И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИТЕ

О. П. Хаврона, Л. П. Білецька

*Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого
ул. Пекарская, 69, Львов 79010, Украина
e-mail: o.khavrona@gmail.com*

Проведенные исследования показывают, что при экспериментальном искусственном колите в крови крыс наблюдаются значительные изменения в функционировании системы L-аргинин/NO и иммунологические нарушения. Коррекцию выявленных нарушений проводили с помощью ингибиторов провоспалительных ферментов: селективного ингибитора COX-2 и двойного селективного блокатора COX-2/5-LOX. В сыворотке крови животных определяли активность NO-синтазы и аргиназы, содержание L-аргинина и NO с помощью Stat Fax и концентрацию ЦИК, IL-1 β и TNF- α методом иммуноферментного анализа. Установлено, что при экспериментальном колите активируется NO-синтазный путь превращения L-аргинина, (это приводит к избыточному образованию нитрогена оксида) и снижается использование L-аргинина по аргиназному пути (об этом свидетельствует снижение активности аргиназы). Выявлено значительное повышение уровня ЦИК, а также IL-1 β и TNF- α , что может способствовать усилению сосудистого тонуса, ухудшению микроциркуляции, гипоксии и развитию оксидативного стресса. Под действием ингибиторов провоспалительных энзимов снижается гиперпродукция NO и нормализуются иммунологические показатели крови, что свидетельствует об угнетении патологического процесса. Более выраженный эффект наблюдается при использовании двойного ингибитора COX-2/5-LOX.

Ключевые слова: экспериментальный колит, L-аргинин, аргиназа, NO-синтаза, циркулирующие иммунные комплексы, интерлейкины.

Одержано: 29.01.2016