

ВПЛИВ АГМАТИНУ НА МЕТАБОЛІЗМ L-АРГІНІНУ В ЕРИТРОЦИТАХ КРОВІ ЗА УМОВ СТРЕПТОЗОТОЦИН- ІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ В ЩУРІВ

І. В. ФЕРЕНЦ, І. В. БРОДЯК, М. Я. ЛЮТА, В. А. БУРДА,
А. М. ФЕДОРОВИЧ, Н. О. СИБІРНА

Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
e-mail: sybirna_natalia@yahoo.com

Досліджено вплив агматину на окисний та неокисний шляхи метаболізму L-аргініну у плазмі та еритроцитах крові щурів за умов експериментального цукрового діабету. У разі введення агматину тваринам з експериментальним цукровим діабетом в еритроцитах периферичної крові пригнічується NO-синтазний шлях метаболізму L-аргініну та дещо підвищується активність аргінази. Встановлено, що агматин попереджає розвиток оксидативно-нітративного стресу у щурів в умовах цієї патології.

Ключові слова: експериментальний цукровий діабет, агматин, плазма, еритроцити, NO-синтаза, нітрити, нітрати, аргіназа, орнітин.

Цукровий діабет (ЦД) 1 типу супроводжується розвитком оксидативно-нітративного стресу, важлива роль у механізмі ініціації якого належить оксиду азоту (NO) і його стабільним метаболітам – NO_2^- та NO_3^- [1]. В організмі людини та тварин є два основні шляхи утворення NO: ензиматичний і неензиматичний. Ензиматичний синтез NO здійснюється за участю ензиму NO-синтази (NOS, 1.14.13.39), який за наявності молекулярного кисню та NADPH-H^+ каталізує перетворення амінокислоти L-аргініну до NO та L-цитруліну [2]. При ЦД 1 типу внаслідок активації прозапальними цитокінами (ФНП- α , ІЛ-1, ІЛ-6 та ін.) у багатьох типах клітин, зокрема в лейкоцитах [3] та тромбоцитах [4], відбувається експресія гену індукцибельної NO-синтази (iNOS) та надмірне утворення NO. Кінцеві продукти метаболізму NO посилюють цитотоксичну дію лейкоцитів периферичної крові, пошкоджують ендотелій судин, порушують гемоциркуляцію та спричинюють тканинну дезорганізацію [5].

За умов ЦД ключову роль у патогенезі діабетичних мікро- та макроангіопатій відіграє ендотеліальна дисфункція [6], основним проявом якої є порушення біодоступності NO внаслідок зниження його синтезу ендотеліальною NO-синтазою (eNOS) чи зменшення його пулу із взаємодії за супероксиданіоном з утворенням цитотоксичного пероксинітриду. Супероксиданіон є основним фактором, який обмежує дифузю та знижує концентрацію NO [7]. Основна кількість NO,

необхідного для регуляції вазоактивності, утворюється в ендотелії за участю eNOS-синтази. Таким чином, eNOS забезпечує синтез NO в кількостях, необхідних для виконання фізіологічних функцій [8].

Після реалізації сигнальної функції NO переміщається у плазму, проникає крізь мембрану еритроцитів та зв'язується з гемоглобіном. У залежності від стану насичення крові киснем за взаємодії NO з гемоглобіном утворюються нітрати та метгемоглобін, нітрозилгемоглобін та S-нітрозогемоглобін. У процесі деоксигенації гемоглобіну та під час гіпоксії, S-нітрозогемоглобін є джерелом неензиматичного утворення NO. Присутність окисників також підсилює вивільнення NO із нітрозилгемоглобіну [9].

Оксид азоту, який утворюється у нормі в еритроцитах функціонально активною ендотеліальною ізоформою NOS [10], бере участь у процесах регуляції їхньої деформації. Дифундуючи у плазму, NO регулює агрегацію тромбоцитів, впливає на кровоплин у дрібних судинах. Інтенсивність синтезу NO в еритроцитах є важливою для підтримання тонкого балансу між продукцією NO та його зв'язуванням гемоглобіном [11]. Таким чином, значну роль в регулюванні біодоступності NO та в його метаболізмі мають еритроцити.

Незначна кількість NO унікає захоплення гемоглобіном і реагує з компонентами плазми з утворенням нітритів, нітроліпідів та продуктів нітрузування/нітрозилування, які є сумою S-нітрозотіолів, N-нітрозамінів та

Fe²⁺-нітрозильних комплексів. Кожен із цих продуктів здатний зберігати, транспортувати і виділяти NO поза місцем його синтезу, виконуючи функцію депо NO [12].

Важливим джерелом неензиматичного утворення NO є нітрити плазми крові. Так, зміна рН середовища в кислу зону (наприклад, при ішемії, запаленні) спричинює реакцію відновлення нітриту з утворенням NO. Також, неензиматично NO може вивільнятися в умовах гіпоксії шляхом відновлення нітратів до нітритів, з наступним відновленням нітритів до NO у присутності гемовмісних протеїнів, які мають нітритредуктазну активність [13].

Продукція NO у клітині регулюється крім того аргіназою (3.5.3.1.), яка конкурує з NOS за спільний субстрат – L-аргінін, перетворюючи його на орнітин та сечовину. У ссавців присутні дві ізоформи цього ензиму (рис. 1). Аргіназа I (цитозольний ензим) експресується у багатьох типах клітин, таких як еритроцити, гепатоцити, ендотеліоцити, нейтрофіли та ін. У гепатоцитах функція аргінази I пов'язана із перетворенням L-аргініну в циклі сечовини, тоді як у всіх інших типах клітин цей ензим задіяний в деградації L-аргініну, чим безпосередньо регулює активність NOS і знижує фізіологічний пул L-аргініну. Аргіназа II (мітохондріальний ензим) експресується здебільшого в нирках, простаті та у незначній кількості в інших типах клітин [14].

Внутрішньоклітинна компартменталізація аргінази відіграє важливу роль у метаболізмі L-аргініну. Колокалізація аргінази I із орнітиндекарбоксилазою (ОДК) у цитозолі спрямовує перетворення орнітину на синтез поліамінів, тоді як у мітохондріях метаболізм L-аргініну за участю аргінази II та орнітинамінотрансферази (ОАТ) зумовлює утворення проліну і L-глутамату (рис. 1) [15].

Співвідношення між NO-синтазним та аргіназним шляхами метаболізму L-аргініну підтримує у клітинах фізіологічний пул цієї амінокислоти і визначає інтенсивність продукції NO та його метаболітів [1]. Спорідненість аргінази до L-аргініну на 3 порядки нижча, ніж NO-синтази (2–20 мМ та 2–20 мкМ відповідно), хоча значення V_{\max} для аргінази за фізіологічних умов більш ніж у 1000 разів вища порівняно з NO-синтазою [16]. Проте взаємозв'язок між цими ензимами є значно складнішим, ніж проста конкуренція за субстрат. Зокрема, проміжним продуктом синтезу NO є N^o-гідрокси-L-аргінін, який має високу спорідненість до аргінази і є сильним ендogenous конкурентним інгібітором цього ензиму [14].

За різних патологічних станів співвідношення між окисним та неокисним шляхами метаболізму L-аргініну змінюється, що, в першу чергу, може бути зумовлено зменшенням біодоступності основного субстрату та кофакторів, розвитком оксидативного стресу чи гіпоксичного стану.

За дії аргініндекарбоксилази L-аргінін перетворюється в декарбоксильований продукт – агматин (1-(4-амінобутил)гуанідин). За своєю природою агматин є катіонним поліаміном, який широко поширений в різних типах клітин і тканин та виконує ряд важливих фізіологічних функцій [17]. Дія агматину на клітини опосередкована рецепторами плазматичної мембрани. У мозку цей поліамін діє як нейромедіатор і/або нейромодулятор, оскільки є ендogenous високоспорідненим лігандом для імідазольних рецепторів (I₁/I₂), а з меншою афінністю для α₂-адренорецепторів, N-метил-D-аспартатних та серотонінових рецепторів [18]. Агматин може проникати в клітини з позаклітинного простору шляхом активного перенесення системою транспортування путресцину, впливаючи при цьому на обмін поліамінів [19]. У клітинах агматин пригнічує активність орнітиндекарбоксилази, інгібуючи синтез поліамінів з орнітину (рис. 1), а також індуює ензиматичне перетворення спермідин/спермін ацетилтрансферазою. Агматин також бере участь у регуляції процесів клітинного росту й апоптозу внаслідок зменшення внутрішньоклітинного рівня поліамінів [20].

Оскільки агматин має гуанідинову групу і є аналогом L-аргініну, він може виконувати роль конкурентного інгібітора NOS ($K_i = 660$ мкМ (nNOS), 220 мкМ (iNOS) і 7,5 мМ (eNOS)). Аргініндекарбоксилаза наявна в тих клітинах, де експресуються гени конститутивної чи індукційної ізоформи NOS. Клітинна колокалізація аргініндекарбоксилази і NO-синтази узгоджується із твердженням про те, що агматин є ендogenous регулятором продукції NO [21].

Тому метою даної роботи було дослідити вплив агматину на співвідношення між NO-синтазним і аргіназним шляхами обміну L-аргініну в плазмі та еритроцитах щурів з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД), а також проаналізувати можливі механізми зміни біодоступності NO.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях з масою тіла 160–200 г.

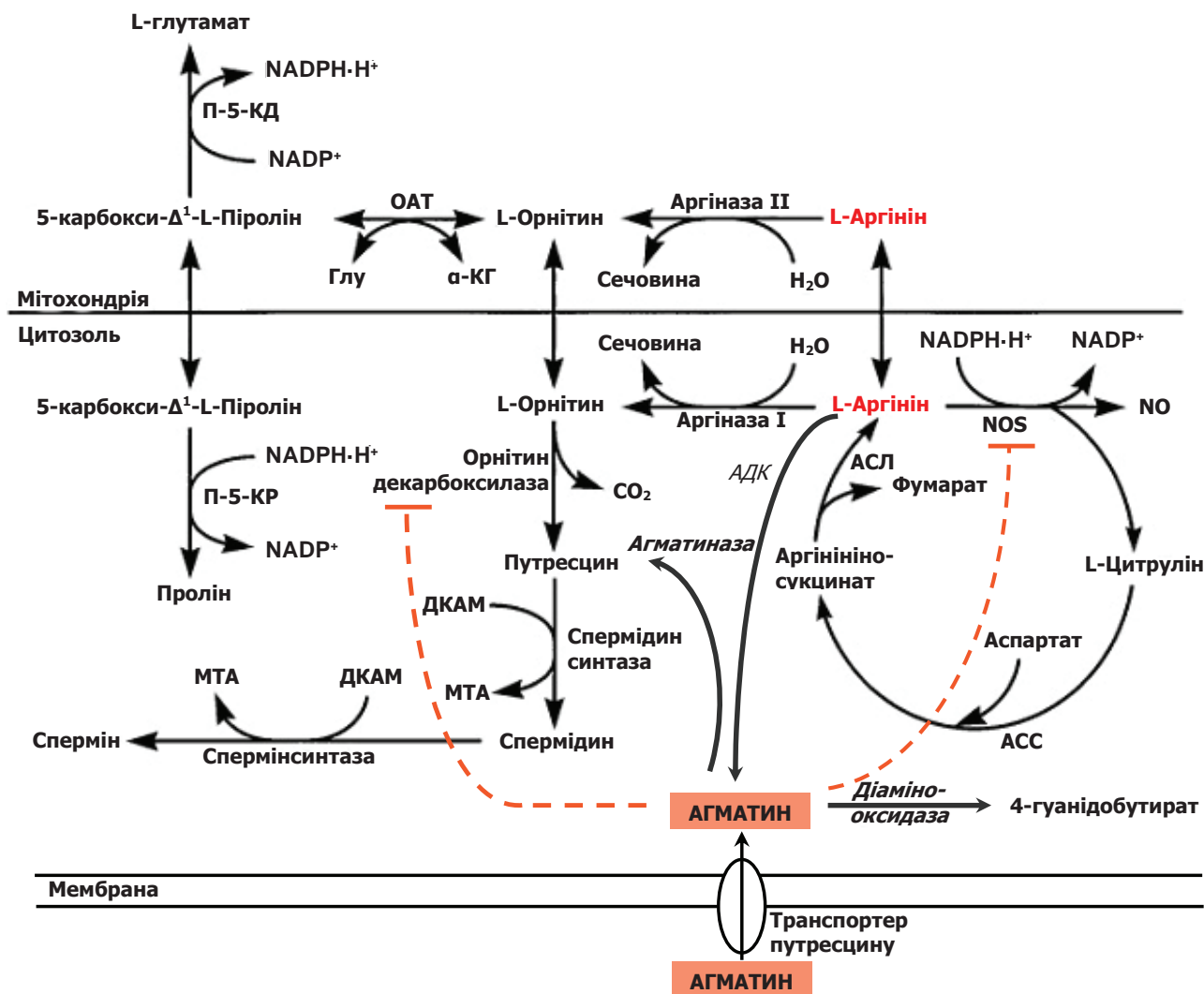


Рис. 1. Метаболізм L-аргініну в клітинах ссавців. Піролін-5-карбоксидегідрогеназа (П-5-КД); піролін-5-карбоксиредуктаза (П-5-КР); орнітинамінотрансфераза (ОАТ); глутамат (Глу); α -кетоглутарат (α -КГ); декарбоксильований 5-аденозилметіонін (ДКАМ); метилтіоаденозин (МТА); аргініносукцинатсинтаза (АСС); аргініносукцинатліаза (АСЛ); аргініндекарбоксилаза (АДК) (адаптовано з [15])

Тваринам забезпечували вільний доступ до їжі та води і перебування у стандартних умовах (12-годинна зміна світла і темряви). Тварини були поділені на 4 групи: 1 – контроль, 2 – контроль+агматин, 3 – ЕЦД, 4 – ЕЦД+агматин. ЕЦД зумовлювали внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину (Sigma, США) в дозі 6 мг на 100 г маси тіла. Стрептозоточин розчиняли в 10 мМ цитратному буфері (рН 5,5). Розвиток діабету контролювали за вмістом глюкози у крові, яку визначали через 72 год після введення стрептозотоцину глюкозооксидазним методом з використанням набору реактивів (Філісіт-Діагностика, Україна). В експерименті використовували тварин із

рівнем глюкози більше 14 мМ. Тваринам 2-ої та 4-ої груп (на 3-й день з моменту індукції діабету) протягом 14 днів внутрішньом'язово вводили агматин (Sigma, США) у розрахунку 20 мг/кг. В останній день експерименту тваринам усіх дослідних груп проводили визначення рівня глюкози у крові.

Щурів усіх дослідних груп декапітували під ефірним наркозом на 15-й день експерименту. Кров для досліджень брали з додаванням гепарину (гепарин : цільна кров, 1 : 100). Еритроцити тричі промивали охолодженим фізіологічним розчином, після чого гемолізували дистильованою водою. Одержані гемолізати використовували для дослідження

активності NO-синтази та аргінази, вмісту стабільних продуктів метаболізму NO (нітритів і нітратів) та орнітину. У плазмі крові проводили визначення концентрації нітритів, нітратів та орнітину.

Вміст нітританіону (NO_2^-) визначали в депротейнізованих етиловим спиртом аліквотах гомолізатів у колориметричній реакції з реактивом Гріса [22]. Результат розраховували за калібрувальним графіком, побудованим для стандартних розчинів натрію нітриту.

Для визначення сумарного вмісту метаболітів NO проводили попереднє відновлення нітратів до нітритів із додаванням ванадій хлориду (VCl_3), що значно підвищувало чутливість методу ($0,5 \text{ мкМ NO}_3^-$). Концентрацію нітратаніону (NO_3^-) розраховували за різницею між сумарним рівнем метаболітів та вмістом NO_2^- . Результат розраховували за калібрувальним графіком із використанням стандартних розчинів натрію нітрату [22].

Сумарну активність NO-синтази визначали з мінімальною кількістю кофакторів для наближення активності ізоензимів до вихідного рівня активності в досліджуваних клітинах. L-аргінін додавали з надлишком, враховуючи його можливу утилізацію в аргіназній реакції.

Визначення сумарної активності NO-синтази у гемолізатах еритроцитів щурів проводили за методом [23]. Для цього гемолізати ($0,02 \text{ мл}$) інкубували в субстратній суміші такого складу: забуферений фізіологічний розчин ($\text{pH } 7,4$), 1 мМ MgCl_2 , 1 мМ CaCl_2 , 30 мкМ L-аргінін , $100 \text{ мкМ NADPH-H}^+$ протягом 30 хв при $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Реакцію зупиняли додаванням 96% -го етилового спирту. Контролем були проби, що містили повну субстратну суміш і попередньо депротейнізований гемолізат. Після центрифугування в надосадовій суміші проводили визначення вмісту NO_2^- . Активність

NOS у пробі виражали в пмолях $\text{NO}_2^-/\text{хв} \cdot \text{мг}$ протеїну.

Вміст орнітину визначали колориметричним методом із використанням нінгідринового реактиву. Після депротейнізації етиловим спиртом до аліквот плазми та гемолізатів додавали нінгідринний реактив та інкубували 25 хв при $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Вимірювання поглинання проводили при $\lambda 505 \text{ нм}$. Результат розраховували за калібрувальним графіком із використанням стандартних розчинів орнітину.

Активність аргінази визначали за кількістю новоутвореного орнітину. Гемолізати інкубували 30 хв при $37 \text{ }^\circ\text{C}$ у суміші такого складу: 100 мкМ трис-HCl ($\text{pH } 7,4$), 1 мМ MnCl_2 , $100 \text{ мкМ L-аргінін}$. Реакцію зупиняли додаванням $0,72 \text{ М HCl}$. Контролем були проби, що містили повну субстратну суміш і попередньо депротейнізований гемолізат. Після центрифугування в надосадовій суміші проводили визначення вмісту орнітину [24]. Активність аргінази у пробі виражали в нмолях орнітину/ $\text{хв} \cdot \text{мг}$ протеїну.

Усі дослідження проводили в 96-лункових плоскодонних планшетах на мікропланшетному спектрофотометрі Epoch (BioTek, США). Вміст загального протеїну в пробах визначали методом Лоурі.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою *t*-критерію Стьюдента. Дані представляли у вигляді $M \pm m$. Статистично значущими вважали дані при $P < 0,05$.

Результати та обговорення

У табл. 1 наведено результати визначення концентрації глюкози у крові тварин усіх чотирьох дослідних груп на початку (72 год з моменту індукції діабету) та в кінці експерименту. За введення агматину контрольним тваринам рівень глюкози у крові не змінювався, тоді як у тварин з ЕЦД цей рівень вірогідно

Таблиця 1. Вплив агматину на концентрацію глюкози у крові щурів з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) ($M \pm m$, $n = 10-14$)

Показники	Групи			
	Контроль	Контроль + Агматин	ЕЦД	ЕЦД + Агматин
Глюкоза (перший день експерименту), ммоль/л	$4,59 \pm 0,33$	$4,59 \pm 0,33$	$18,09 \pm 0,91^*$	$18,09 \pm 0,91$
Глюкоза (останній день експерименту), ммоль/л	$4,61 \pm 0,35$	$3,79 \pm 0,28$	$17,6 \pm 0,81^*$	$4,54 \pm 0,31^\#$

Примітка. * Різниця вірогідна порівняно з контролем, $P < 0,05$; $^\#$ різниця вірогідна порівняно з діабетом, $P < 0,05$

Таблиця 2. Вміст стабільних метаболітів NO та продукту аргіназної реакції у плазмі крові щурів з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) ($M \pm m$, $n = 10-14$)

Показники	Групи			
	Контроль	Контроль + Агматин	ЕЦД	ЕЦД + Агматин
NO_2^- , пмоль/мг протеїну	24,89 ± 4,41	28,54 ± 4,05	15,09 ± 2,95*	19,05 ± 3,01
NO_3^- , пмоль/мг протеїну	187,25 ± 16,65	92,07 ± 19,52*	182,50 ± 18,53	222,24 ± 18,12
($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$), пмоль/мг протеїну	212,14 ± 13,78	120,61 ± 14,42*	197,59 ± 13,02	241,29 ± 13,98 [#]
Орнітин, нмоль/мг протеїну	3,78 ± 0,33	5,15 ± 0,80	4,92 ± 0,52	6,98 ± 0,78 [#]

Примітка. * Різниця вірогідна порівняно з контролем, $P < 0,05$; [#]різниця вірогідна порівняно з діабетом, $P < 0,05$

знижувався до фізіологічного значення (табл. 1). Згідно з даними літератури [27], агматин зв'язується з імідазольними рецепторами на поверхні β -клітин підшлункової залози та спричинює вивільнення інсуліну і зниження рівня глюкози при діабеті. Таким чином, агматин бере участь у корекції метаболічних порушень при ЕЦД.

Вміст нітританіонів у плазмі крові у значній мірі відображає активність NO-синтази ендотеліальних клітин, адже 90% всіх нітритів плазми є стабільними метаболітами оксиду азоту NO-синтазного походження [25]. При багатьох патологічних станах зміна цього показника дає можливість оцінити функціональний стан ендотелію. Як показали наші дослідження, у плазмі крові щурів на 39% зменшується концентрація нітританіону (табл. 2), що свідчить про зменшення продукції NO ендотелієм судин при ЦД. За діабету на фоні розвитку гіпоксичного стану зниження вмісту нітританіону пов'язано також з активним його відновленням до NO в еритроцитах периферичної крові. Значна частина утвореного неензиматичним шляхом NO вивільняється з еритроцитів і бере участь у вазодилатації. За умов ЕЦД вміст нітратаніонів у плазмі крові не зазнає достовірних змін порівняно з контрольною групою (табл. 2). Підтримання концентрації нітратів на фізіологічному рівні зумовлено тим, що як NO, так і нітрити можуть дифундувати в еритроцити і за взаємодії з оксигемоглобіном окислюватися до нітратів [9].

Внаслідок тривалої гіперглікемії та розвитку оксидативного стресу ендотелій судин одним із перших зазнає негативного впливу вільних радикалів, що призводить до надмірного окислення фосфоліпідів, протеїнів і є одним з етіологічних факторів розвитку ендотеліальної дисфункції при цій патології [26]. Основним проявом дисфункції ендотелію

є порушення біодоступності NO, що зумовлено зниженням його синтезу eNO-синтазою. Ми припускаємо, що одна із причин зниження вмісту нітританіонів при ЕЦД (табл. 2) зумовлена тим, що при діабеті на поверхні ендотеліальних клітин зменшується кількість ацетилхолінових рецепторів, подразнення яких у нормі спричинює активацію eNOS та утворення NO [27]. Згідно з даними літератури [28], при ЦД в ендотеліюцитах підвищується вміст та активність аргінази, що призводить до зниження концентрації L-аргініну, до конкурування за спільний субстрат між NO-синтазою та аргіназою і, як наслідок, до зниження продукції NO ендотелієм.

Під час дослідження концентрації продукту аргіназної реакції – орнітину в плазмі крові щурів з ЕЦД нами виявлено, що рівень цього метаболіту має тенденцію до зростання порівняно із групою контрольних тварин (табл. 2).

Необхідно зазначити, що в контрольній групі за дії агматину в плазмі знижується сумарний вміст метаболітів NO (табл. 2), що, в свою чергу, пов'язано з рівнем NO_3^- , вміст якого зменшується у 2 рази відносно вихідного рівня контролю (табл. 2). Це може відбуватися за рахунок зниження швидкості надходження нітриту в еритроцити, що залежить від проникності клітинної мембрани і швидкості його реакції із гемоглобіном [29]. У той же час, у тварин із діабетом сумарний вміст метаболітів NO у плазмі підвищується на 22% у разі введення агматину (табл. 2). Відомо [30], що агматин, зв'язуючись з I- та α_2 -адренорецепторами на поверхні ендотеліюцитів, може стимулювати eNOS-залежну продукцію NO навіть в умовах розвитку ендотеліальної дисфункції при діабеті.

При стрептозотоциновому діабеті на фоні введення агматину в плазмі крові на 42%

зростає концентрація орнітину. Це може бути зумовлено здатністю агматину активувати антизими орнітиндекарбоксилази, пригнічуючи її активність на посттрансляційному рівні [20].

В еритроцитах щурів при ЕЦД відбувається активація окисного та незначне пригнічення неокисного шляху перетворення L-аргініну. Збільшення активності NOS майже в 2 рази в еритроцитах при діабеті (рис. 2), ймовірно, зумовлено активацією індукцйбельної ізоформи ензиму, адже в умовах гіперглікемії нагромадження продуктів неензиматичного глікозилювання стимулює утворення прозапальних цитокінів, які є індукторами експресії гену iNOS [13]. При діабеті збільшення сумарної активності NO-синтази в еритроцитах супроводжувалось незначним зниженням вмісту нітританіона, а вміст нітратаніона мав тенденцію до зростання (табл. 3). Вміст нітритів і нітратів в еритроцитах залежить не лише від активності ізоензимів NO-синтази, а і від нітритредуктазної активності дезоксигемоглобіну, здатного відновлювати нітрити до NO. Таким чином, еритроцити впливають на пул вазоактивного NO у крові і регулюють біодоступність NO різного походження [9].

У контрольних тварин за введення агматину відбувається достовірне зниження активності NOS на 35%, тобто агматин виявляє свою інгібуючу дію. Активність цьо-

го ензиму у тварин з ЕЦД знижується аж на 49% (рис. 2). Отже, агматин знижує активність NOS, знімає надсинтез NO (що є характерним для патологічного стану) і відновлює цей показник до нормальних фізіологічних значень.

У контрольних тварин в еритроцитах крові сумарний рівень метаболітів після введення агматину суттєво не знижується порівняно з показниками в контрольній групі (табл. 3). При стрептозотоциновому діабеті внаслідок введення агматину в еритроцитах крові зростає вміст стабільних метаболітів оксиду азоту, зокрема нітритів, порівняно із показниками у групі тварин, яким не вводили агматин, що, ймовірно, спричинено збільшенням їхнього надходження із кров'яного русла.

Введення агматину виявило зростання активності аргінази в еритроцитах тварин з експериментальним діабетом, що може пояснюватись збільшенням доступності L-аргініну для цього ензиму внаслідок інгібування NOS (рис. 2). Необхідно відзначити, що в контрольній групі у разі введення агматину активність аргінази не зазнає вірогідних змін, але зростає рівень орнітину порівняно з контролем (табл. 3). Оскільки агматин пригнічує реакцію перетворення орнітину до поліамінів, то нагромадження значної кількості продуктів аргіназної реакції в контролі спричинює пригнічення аргінази за принципом негативного зворотного зв'язку.

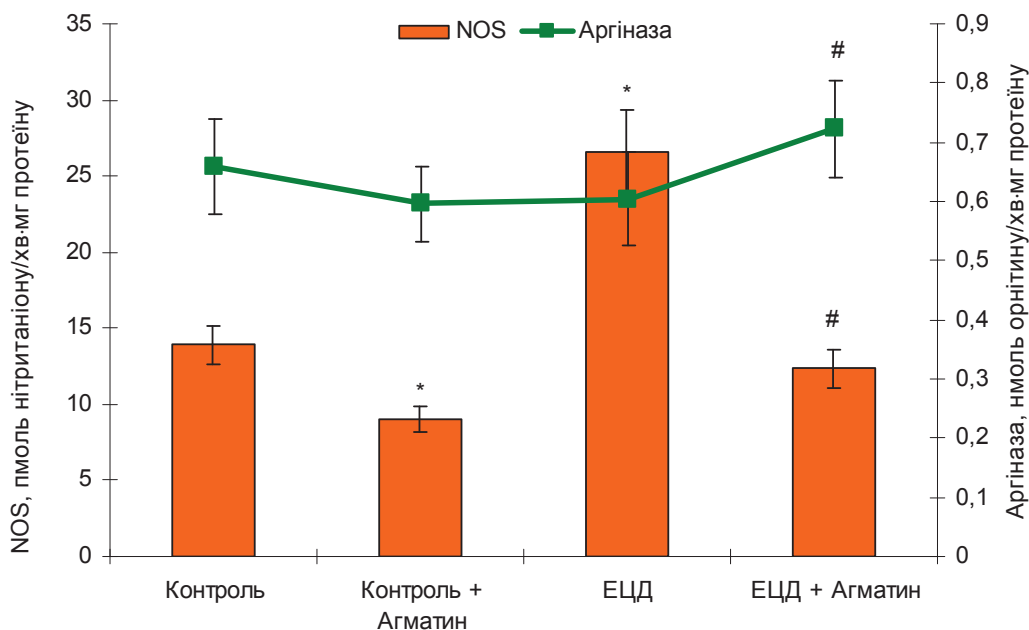


Рис. 2. Вплив агматину на активність ензимів окисного та неокисного шляхів метаболізму L-аргініну в еритроцитах крові щурів з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) ($M \pm m$, $n = 10-14$). * Різниця вірогідна порівняно з контролем, $P < 0,05$; # різниця вірогідна порівняно з діабетом, $P < 0,05$

Таблиця 3. Вплив агматину на вміст продуктів окисного та неокисного шляхів метаболізму L-аргініну в еритроцитах крові щурів з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) ($M \pm m$, $n = 10-14$)

Показники	Групи			
	Контроль	Контроль + Агматин	ЕЦД	ЕЦД + Агматин
NO ₂ ⁻ , пмоль/мг протеїну	50,05 ± 6,61	57,48 ± 9,67	44,10 ± 4,99	62,39 ± 3,88 [#]
NO ₃ ⁻ , пмоль/мг протеїну	15,47 ± 2,96	4,12 ± 0,89*	19,67 ± 3,05	22,33 ± 2,08
(NO ₂ ⁻ + NO ₃ ⁻), пмоль/мг протеїну	65,52 ± 5,81	61,59 ± 6,35	63,77 ± 6,02	84,72 ± 5,77 [#]
Орнітин, нмоль/мг протеїну	0,56 ± 0,14	1,38 ± 0,18*	1,07 ± 0,19*	1,33 ± 0,21

Примітка. * Різниця вірогідна порівняно з контролем, $P < 0,05$; # різниця вірогідна порівняно з діабетом, $P < 0,05$

Таким чином, у разі введення агматину в еритроцитах інгібується перетворення орнітину до поліамінів, що призводить до його накопичення. У тварин з ЕЦД в еритроцитах крові відбувається надмірна активація окисного метаболізму L-аргініну з відповідним підвищенням активності NO-синтази та незначне пригнічення аргіназної ланки метаболізму. У плазмі крові щурів з ЕЦД виявлено зниження вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту нітританіону, що зумовлене його активним відновленням до NO в еритроцитах крові. У разі введення агматину тваринам з ЕЦД в еритроцитах відбувається пригнічення NO-синтазного шляху метаболізму L-аргініну, що супроводжується незначним підвищенням активності аргінази та підвищенням вмістом орнітину. На фоні введення агматину в умовах ЕЦД у плазмі крові виявлено підвищення сумарного вмісту метаболітів NO.

ВЛИЯНИЕ АГМАТИНА НА МЕТАБОЛИЗМ L-АРГИНИНА В ЭРИТРОЦИТАХ КРОВИ В УСЛОВИЯХ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА У КРЫС

И. В. Ференц, И. В. Бродяк, М. Я. Люта,
В. А. Бурда, А. Н. Федорович,
Н. А. Сибирная

Львовский национальный университет
имени Ивана Франко, Украина;
e-mail: sybirna_natalia@yahoo.com

Исследовано влияние агматина на окислительный и неокислительный пути метаболизма L-аргинина в плазме и эритроцитах крови крыс при экспериментальном сахарном диабете. Установлено, что агматин предот-

вращает развитие оксидативно-нитративного стресса. При введении агматина животным с экспериментальным сахарным диабетом в эритроцитах периферической крови угнетается NO-синтазный путь метаболизма L-аргинина и незначительно повышается активность аргиназы.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет, агматин, плазма, эритроциты, NO-синтаза, нитриты, нитраты, аргиназа, орнитин.

THE EFFECT OF AGMATINE ON L-ARGININE METABOLISM IN ERYTHROCYTES UNDER STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES IN RATS

I. V. Ferents, I. V. Brodyak, M. Ya. Lyuta,
V. A. Burda, A. M. Fedorovych,
N. O. Sybirna

Ivan Franko National University of Lviv, Ukraine;
e-mail: sybirna_natalia@yahoo.com

Summary

The effects of agmatine on oxidative and non-oxidative metabolic pathways of L-arginine were investigated both in plasma and erythrocytes under experimental diabetes mellitus. It was indicated, that agmatine prevents the development of oxidative-nitrosative stress in diabetic rats. After treatment of animals by agmatine NO-synthase metabolic pathway of L-arginine is depressed whereas arginase one increases in erythrocytes of rats with experimental diabetes mellitus.

Key words: experimental diabetes mellitus, agmatine, plasma, erythrocyte, NO-synthase, nitrite, nitrate, arginase, ornitine.

1. Барська М. Л., Бродяк І. В., Сибірна Н. О. // Мед. хімія. – 2006. – **8**, № 3. – С. 67–69.
2. Chen K., Pittman R. N., Popel A. S. // Antioxid Redox Signal. – 2008. – **10**, N 7. – P. 1185–1198.
3. Бродяк І. В., Сибірна Н. О. // Укр. біохім. журн. – 2006. – **78**, № 5. – С. 114–119.
4. Сибірна Н. О., Кулачковський О. Р. // Досягнення біології та медицини. – 2004. – № 1. – С. 67–72.
5. Бродяк І. В., Сибірна Н. О. // Фізіол. журн. – 2008. – **54**, № 1. – С. 63–68.
6. Schalkwijk C. G., Stehouwer C. D. A. // Clin. Sci. – 2005. – **109**. – P. 143–159.
7. Bayraktutan U. // Diabetes Obes. Metab. – 2002. – **4**. – P. 224–238.
8. Channon K. M., Qian H., George S. E. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2000. – **20**. – P. 1873–1881.
9. Kim-Shapiro D. B., Schechter A. N., Gladwin M. T. // Ibid. – 2006. – **26**. – P. 697–705.
10. Kleinbongard P., Schulz R., Rassaf T. et al. // Blood. – 2006. – **107**, N 7. – P. 2943–2951.
11. Jensen F. B. // J. Exp. Biol. – 2009. – **212**. – P. 3387–3393.
12. Heiss Ch., Lauer T., Dejam A. et al. // J. Am. Coll. Cardiol. – 2006. – **47**, N 3. – P. 573–579.
13. Дрель В. Р. // Біологічні студії – 2010. – **4**, № 2. – С. 141–158.
14. Ash D. E. // J. Nutr. – 2004. – **134**, N 10. – P. 2760S–2764S.
15. Li H., Meininger C. J., Hawker J. R et al. // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2001. – **280**. – P. E75–E82.
16. Morris S. M., Wu G. // Biochem. J. – 1998. – **336**. – P. 1–17.
17. Haenisch B., von Kügelgen I., Bönisch H. et al. // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol. – 2008. – **295**, N 5. – P. G1104–G1110
18. Wu N., Su R.-B., Li J. // Cell Mol. Neurobiol. – 2008. – **28**, N 5. – P. 629–641.
19. Satriano J., Isome M., Casero R. A. et al. // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 2001. – **281**. – P. C329–C334.
20. Satriano J., Matsufuji S., Murakamii Y. et al. // J. Biol. Chem. – 1998. – **273**, N 25. – P. 15313–15316.
21. Galea E., Regunathan S., Eliopoulos V. et al. // Biochem J. – 1996. – **316**. – P. 247–249.
22. Miranda K. M., Espey M. G., Wink D. A. // Nitric Oxide. – 2001. – **5**, N 1. – P. 62–71.
23. Dawson J., Knowles R. G. // Mol. Biotechnol. – 1999. – **12**, N 3. – P. 275–279.
24. Iyamu E. W., Asakura T., Woods G. M. // Anal. Biochemistry. – 2008. – **383**, N 2. – P. 332–334.
25. Weitzberg E., Hezel M., Lundberg J. O. // Anesthesiology. – 2010. – **113**, N 6. – P. 1460–1475.
26. Сагач В. Ф., Ткаченко М. М., Присяжна О. Д. та ін. // Фізіол. журн. – 2003. – **49**, № 4. – С. 24–32.
27. Özyazgan S., Bıçakcı B., Özyaydin A. et al. // Pharmacol. Research – 2003. – **48**, N 2. – P. 133–138.
28. Yang G., Lucas R., Caldwell R. et al. // J. Cardiovasc. Dis. Res. – 2010. – **1**, N 2. – P. 59–63.
29. Vitturi D. A., Teng X., Toledo J. C. et al. // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2009. – **296**, N 5. – P. H1398–1407.
30. Morrissey J. J., Klahr S. // Proc. Assoc. Am. Physicians. – 1997. – **109**, N 1. – P. 51–57.

Отримано 20.09.2011