

L-АРГИНИН И L-ГЛУТАМИН КАК СКЭВЕНДЖЕРЫ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ

А.Н. Бородинский, к.б.н., доцент; И.К. Дремза, к.б.н.

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси

Изучена способность аминокислот L-аргинина и L-глутамина к нейтрализации свободных радикалов, генерируемых гемоглобином при взаимодействии с органическим трет-бутилгидропероксидом – аналогом гидроперекисей эндогенных липидов. Полученные результаты свидетельствуют, что L-аргинин и L-глутамин являются эффективными скэвенджерами свободных радикалов.

Ключевые слова: аминокислоты, свободные радикалы, окислительный стресс, трет-бутилгидропероксид

The capacity of L-arginine and L-glutamine to neutralize free radicals generated by hemoglobin during interaction with tert-butyl hydroperoxide was studied. The obtained results indicate that L-arginine and L-glutamine are effective scavengers of free radicals.

Key words: aminoacids, free radicals, oxidative stress, tert-butyl hydroperoxide

Введение. Известно, что аминокислоты L-аргинин и L-глутамин способны подавлять гиперкатаболическую реакцию в тканях, вызванную окислительным стрессом, сопровождающим ряд патологических состояний организма. Так, в условиях окислительного стресса потребность в глутамине существенно возрастает, что связано с включением этой аминокислоты в многочисленные биохимические реакции, направленные на поддержание устойчивости метаболизма в клетке [6]. L-аргинин используется для синтеза ряда биорегуляторов: анаболических гормонов, полиаминов, оксида азота (NO), повышая адаптивные возможности тканей организма в различных условиях. Многие эффекты L-аргинина связаны с его участием в синтезе NO в клетках эндотелия сосудов, макрофагах, нейтрофилах [2, 3, 5]. Известно, что в разных электронных состояниях молекула NO способна изменять активность многих ферментов и других белков. Снижение синтеза NO приводит к вазоконстрикции, активации процессов свободнорадикального повреждения клеточных мембран. Ранее установлено, что сама молекула NO обладает антиоксидантными свойствами [1]. Кроме того, NO участвует в активации синтеза цитопротекторных белков теплового шока семейства HSP-70, которые являются важной системой защиты клеток при стрессорном повреждении [4].

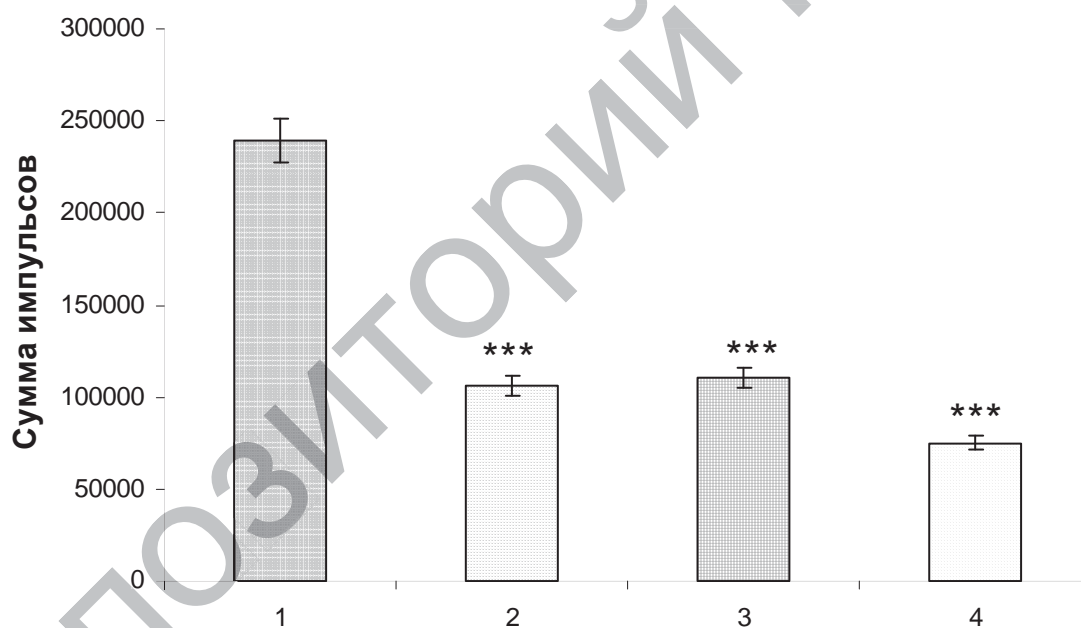
Целью настоящей работы было выяснить способность молекул L-аргинина и L-глутамина к нейтрализации свободных радикалов, генерируемых гемоглобином при его взаимодействии с органическим трет-бутилгидропероксидом (т-БГП).

Материалы и методы. Для выяснения скэвенджерных свойств L-аргинина и L-глутамина мы использовали модель окислительного стресса, инициируемого т-БГП в гемолизатах эритроцитов человека [7].

Процедура исследования включала следующие этапы: эритроциты, полученные на станции переливания крови г. Гродно трижды отмывали в 0,155 мМ растворе NaCl в 0,05 М фосфатном буфере (рН=7,4), а затем готовили 2,5% гемолизат клеток в дистиллированной воде. В измерительную кювету хемилюминометра ХЛМЦ – 01 (Россия) вносили 1,8 мл 2,5% гемолизата и 0,1 мл (10 мкМ) раствора люминола в 0,05 М фосфатном буфере (контрольная проба). После 2-минутной регистрации контрольной суммы импульсов хемилюминесценции в кювету добавляли 0,1 мл 1,5 мМ раствора трет-бутилгидропероксида (т-БГП) в 0,05 М

фосфатном буфере – инициатора свободнорадикального окисления и на протяжении последующих 18 минут регистрировали интенсивность хемилюминесценции. В опытный образец брали 1,7 мл буфера, добавляли 0,1 мл люминола, 0,1 мл растворов L-аргинина и (или) L-глутамина, 0,1 мл т-БГП. Общий объем смеси в контрольных и опытных образцах составлял 2,0 мл.

Результаты и обсуждение. Внесение в раствор гемолизата эритроцитов т-БГП сопровождалось выраженной вспышкой хемилюминесценции (рисунок), свидетельствующей об активации окислительного стресса. При добавлении в кювету растворов L-аргинина или L-глутамина (в конечной концентрации 0,03 М) сумма импульсов хемилюминесценции снижалась в 2,3 и 2,2 раза, соответственно, по сравнению с контрольной пробой (рисунок), что свидетельствовало о подавлении процессов свободнорадикального окисления в эритроцитарных гемолизатах. Добавление в образец смеси аминокислот в равных частях (в суммарной концентрации 0,03 М) снижало сумму импульсов хемилюминесценции в 3,2 раза. Мы предполагаем, что способность к подавлению хемилюминесценции обусловлена скэвенджерными свойствами L-аргинина и L-глутамина в отношении свободных радикалов, в частности, метилпероксильного радикала, образуемого из радикала метила [9]. Подобные эффекты связаны, очевидно, с особенностями структуры молекулы данных аминокислот: наличием двойных связей, аминогуанидиновой группировки в молекуле L-аргинина и др. [8]. Ранее была показана высокая эффективность L-аргинина как скэвенджера супероксиданион радикала [8].



1 - контроль, 2 - L-аргинин (0,030 М), 3 - L-глутамин (0,030 М), 4 - L-аргинин (0,015 М) + L-глутамин (0,015 М)

Рисунок – Гашение L-аргинином и L-глутамином вспышки хемилюминесценции, индуцируемой в гемолизатах эритроцитов человека трет-бутилгидропероксидом

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о способности молекул L-аргинина и L-глутамина к нейтрализации свободных радикалов и обосновывают возможность использования этих аминокислот в комплексной терапии заболеваний, сопровождающейся развитием окислительного стресса.

Литература

1. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа и S- нитроэтиолы – две возможные формы стабилизации и транспорта оксида азота в биосистемах // Биохимия. - 1998. - №7. - С. 924-930.
2. Ванин А.Ф. Оксид азота в биологии: история, состояние и перспективы исследования // Биохимия. - 1998. - № 7. - С. 867-869.
3. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вести РАМН. – 2000. - № 4. - С. 3-5.
4. Зинчук В.В., Борисюк М.В. Эндотелийзависимые механизмы формирования кислородтранспортной функции крови при окислительном стрессе // Дисфункция эндотелия, Витебск: изд-во ВГМУ. - 2000. - С. 69-72.
5. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. Оксид азота в регуляции функциональной активности физиологических систем // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2000. - № 4. - С. 16-21.
6. Ложкин С.Н., Тиканадзе А.Д., Тюрюмина М.И. Глутамин и его роль в интенсивной терапии // Вестник интенсивной терапии. - 2003. - № 4. - С. 1-4.
7. Domanski A.V., Lapshina E.A., Zavodnik I.B. Oxidative processes induced by tert-butyl hydroperoxide in human red blood cells: chemiluminescence studies // Biochemistry (Moscow). – 2005. – Vol. 70, № 7. – P. 761-769.
8. Lass A, Suessenbacher A, Wölkart G, Mayer B, Brunner F. Functional and analytical evidence for scavenging of oxygen radicals by L-arginine // Mol. Pharmacol. - 2002. - Vol. 61, № 5. – P. 1081-1088.
9. Van der Zee J., Barr D. P., Mason R. P. J. ESR spin trapping investigation of radical formation from the reaction between hematin and tert-butyl hydroperoxide // Free Radic. Biol. Med. - 1996. - Vol. 20, № 2. - P. 199-206.