

**VILNIAUS UNIVERSITETO EKSPERIMENTINĖS IR KLINIKINĖS
MEDICINOS INSTITUTAS**

Audrius Vasiliauskas

**GASTRODUODENINĖS SRITIES GLEIVINĖS OKSIDACINIŲ
PROCESŲ IR AUGALŲ TINKTŪRŲ POVEIKIO EKSPERIMENTINIS
IR KLINIKINIS ĮVERTINIMAS**

**Daktaro disertacija
Biomedicinos mokslai, medicina (07B)
Gastroenterologija (B550)**

Vilnius, 2010

Disertacija rengta 2001 - 2010 metais Vilniaus universiteto Eksperimentinės ir klinikinės medicinos institute.

Disertacija ginama eksternu.

Mokslinis konsultantas:

Prof. habil. dr. **Algimantas Irnius** (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 07 B, gastroenterologija – B 550)

SANTRUMPOS

AA	adjuvantinis artritas
AOA	antioksidantinis aktyvumas
ATF	adenozintrifosfatas
cAMF	ciklinis adenožino monofosfatas
COX	ciklooksigenazė
DMSO	dimetilsulfoksidas
DNR	deoksiribonukleininė rūgštis
DPPH	difenilpikrilo hidroksilas
GPX	gliutaciono peroksidazė
H₂O	vanduo
H₂O₂	vandenilio peroksidas
H₃PO₄	ortofosforo rūgštis
HRP	krienų peroksidazė (<i>horseradisch peroxidase*</i>)
IL	interleukinas
IM	inkubacinis mišinys
KAT	katalazė
MDA	maloninis dialdehidas
MMN	monomorfonuklearai
NO	azoto monoksidas (<i>nitric oxide*</i>)
NTB	mėlynasis nitrotetrazolio chloridas
O₂⁻	superoksido anionas
PG	prostaglandinas
PGR	polimerazės grandininė reakcija
PMN	polimorfonuklearai
RA	reumatoidinis artritas
ROM	reaktyvūs deguonies metabolitai (<i>reactive oxygen metabolites*</i>)
ROS	reaktyvūs deguonies junginiai (<i>reactive oxygen species*</i>)
SOD	superoksido dismutazė
TNF	navikų nekrozės faktorius (<i>tumor necrosis factor*</i>)

* - angl.

TURINYS

1. ĮVADAS	7
Darbo tikslas	9
Mokslinis naujumas.....	9
Praktinė darbo reikšmė	10
Ginamieji teiginiai.....	10
Darbo uždaviniai.....	10
2. LITERATŪROS APŽVALGA	12
2.1. Trumpa reaktyvių deguonies junginių ir antioksidantų charakteristika	12
2.2. Opaligės formavimosi mechanizmai ir pro/antioksidacinės sistemos vaidmuo	16
2.3. <i>Helicobacter pylori</i> (<i>H. pylori</i>) vaidmuo opaligių atsiradimui	21
2.4. Augalinių preparatų naudojimas virškinamojo trakto ligoms gydyti.....	24
2.4.1. Paprastojo kaštono (<i>Aesculus hippocastanum</i> (L.) farmakoterapinės savybės	26
2.4.2. Pelkinės vingiorykštės (<i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim) farmakoterapinės savybės	30
3. DARBO APIMTIS IR TYRIMO METODAI	36
3.1. Paprastojo kaštono ir pelkinės vingiorykštės tinktūrų paruošimas ir standartizavimas	36
3.2. Eksperimentiniai tyrimai su gyvūnais	36
3.2.1. Eksperimentiniai gyvūnai	36
3.2.2. Eksperimentinės opaligės sukėlimas ir gydymas augalinėmis tinktūromis	37
3.2.3. Adjuvantinio artrito ir eksperimentinės opaligės sukėlimas ir gydymas augalinėmis tinktūromis	39
3.2.4. Kraujo ir skrandžio gleivinės oksidacinių ir antioksidacinių rodiklių tyrimas	40
3.2.4.1. Tiriamųjų mėginių paruošimo metodai	40
3.2.4.2. Maloninio dialdehido (MDA) kiekio kraujyje ir skrandžio gleivinės audinyje nustatymas	40
3.2.4.3. Antioksidacinių fermentų aktyvumo nustatymas kraujo serume ir skrandžio gleivinės audinyje	41
3.2.4.3.1. Superoksido dismutazės (SOD) aktyvumo nustatymas	41
3.2.4.3.2. Katalazės (KAT) aktyvumo nustatymas	42
3.2.4.3.3. Bendro antioksidantinio aktyvumo (AOA) nustatymas	43
3.2.4.3.4. Baltymo kiekio nustatymas tiriamoje medžiagoje	43
3.2.5. Mėginių inkubacija paprastojo kaštono ir pelkinės vingiorykštės tinktūromis in vitro tyrimuose	43
3.2.6. Histologinis skrandžio gleivinės tyrimas	44

3.3. Klinikiniai tyrimai	44
3.3.1. Pacientų atrankos kriterijai	44
3.3.2. Biopsinės medžiagos iš skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės paėmimo ir vertinimo metodika	45
3.3.3. Biopsinės medžiagos apdorojimas ir gleivinės homogenatų inkubacija augalinėmis tinktūromis	47
3.3.4. Pro/antioksidacinės sistemos rodiklių tyrimo metodika	47
3.3.4.1. Fluorimetrinis vandenilio peroksido kiekio nustatymas gastroduodeninės srities gleivinės audinyje	47
3.4. Statistinė duomenų analizė	48
4. DARBO REZULTATAI	49
4.1. EKSPERIMENTINIAI TYRIMAI SU GYVŪNAIS	49
4.1.1. Sveikų žiurkių medikamentinė skrandžio opaligė ir jos gydymas vingiorykštės tinktūra	49
4.1.1.1. Makroskopiniai pokyčiai skrandžio gleivinėje sukėlus žiurkėms eksperimentinę opaligę ir gydant ją vingiorykštės tinktūra.....	49
4.1.1.2. Žiurkių, su eksperimentine opalige histologiniai pokyčiai skrandžio gleivinėje gydant ją pelkinės vingiorykštės tinktūra	50
4.1.1.3. Žiurkių su eksperimentine opalige pro/antioksidacinės sistemos rodikliai kraujo serume gydant ją pelkinės vingiorykštės tinktūra	52
4.1.1.4. Pro/antioksidacinės sistemos rodikliai skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su eksperimentine opalige gydant ją pelkinės vingiorykštės tinktūra	53
4.1.2. Sveikų žiurkių medikamentinė skrandžio opaligė ir jos gydymas kaštono žiedų tinktūra	57
4.1.2.1. Kaštono žiedų tinktūros poveikis kraujo serumo pro/antioksidacinės sistemos rodikliams žiurkėms su eksperimentine opalige	57
4.1.2.2. Kaštono žiedų tinktūros in vitro poveikis pro/antioksidacinės sistemos rodikliams skrandžio gleivinės homogenatuose žiurkėms su eksperimentine opalige	58
4.1.3. Žiurkių, sergančių adjuvantiniu artritu eksperimentinė opaligė ir jos gydymas augaliniais preparatais	60
4.1.3.1. Pelkinės vingiorykštės tinktūros poveikis makroskopiniams pokyčiams skrandžio gleivinėje žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige	61
4.1.3.2. Pelkinės vingiorykštės tinktūros poveikis histologiniams pokyčiams skrandžio gleivinėje žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige	62
4.1.3.3. Pelkinės vingiorykštės tinktūros poveikis pro/antioksidacinės sistemos rodikliams kraujo serume žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige	65

4.1.3.4. Pelkinės vingiorykštės poveikis pro/antioksidacinės sistemos rodikliams skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige	66
4.1.3.5. Kaštono žiedų tinktūros poveikis pro/antioksidacinės sistemos rodikliams skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige	71
4.2. KLINIKINIAI TYRIMAI	74
4.2.1. Trumpa pacientų klinikinė charakteristika	74
4.2.2. Histologinių pokyčių charakteristika skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinėje ligoniams, sergantiems gastroduodeninės srities ligomis	76
4.2.3. Biopsinės medžiagos iš skrandžio gleivinės infekuotumas <i>Helicobacter pylori</i> bakterijomis	79
4.2.4. Pro/antioksidacinės sistemos pokyčiai kraujo serume, sergant gastroduodeninės srities ligomis	80
4.2.5. Reaktyvūs deguonies junginiai gastroduodeninės srities gleivinės biopsinėje medžiagoje	82
4.2.6. Vingiorykštės ir kaštonų tinktūrų poveikis skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės oksidacinei sistemai sergant gastroduodeninės srities ligomis	86
4.2.6.1. 40° etanolio poveikis skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės oksidacinei sistemai sergant gastroduodeninės srities ligomis	86
4.2.6.2. Pelkinės vingiorykštės ir kaštono žiedų tinktūrų poveikis skrandžio gleivinės oksidacinei sistemai sergant gastroduodeninės srities ligomis	88
4.2.6.3. Pelkinės vingiorykštės ir kaštono žiedų tinktūrų poveikis dvylikapirštės žarnos gleivinės oksidacinei sistemai sergant gastroduodeninės srities ligomis	90
5. DARBO REZULTATŲ APTARIMAS	95
6. IŠVADOS	107
7. LITERATŪROS SĄRAŠAS	108
8. DISERTACIJOS TEMA SPAUSDINTŲ DARBŲ SĄRAŠAS	122

1. ĮVADAS

21 amžiaus pradžioje, esant išvystytai farmacijos pramonei, sudėtingoms vaistinių medžiagų gamybos technologijoms, vis didesnis mokslininkų ir gydytojų praktikų dėmesys krypta į vaistinių augalų tyrimus, biologiškai aktyvių medžiagų naudojimą ligų gydymui.

Vaistinių augalų panaudojimas klinikinėje praktikoje daugiausia grindžiamas per laikmetį susistemintais liaudies pastebėjimais, tačiau nuoseklių klinikinių tyrimų, įrodančių vaistinio augalo vartojimo indikaciją, dažniausiai trūksta. Viena iš daugelio naujų tyrimo galimybių - greta pagrindinio patogenetinio gydymo šiuolaikiniais cheminiais preparatais naudoti vaistinius augalus įvairiomis formomis. Vaistiniai augalai gali palengvinti medikamentinio gydymo sukeltus pašalinius reiškinius, sustiprinti vaistų veikimą, taip pat gali būti vartojami recidyvų profilaktikai. Sėkmingam jų pritaikymui klinikinėje praktikoje, svarbu nustatyti farmakoterapinį biologiškai aktyvių medžiagų poveikį visoms patologinio proceso grandims.

Viena iš fitoterapijos pritaikymo sričių, kurioje vaistinių augalų panaudojimas būtų moksliai pagrįstas ir atvertų naujas medikamentinės terapijos ir fitoterapijos derinimo taikymo galimybes, būtų virškinimo trakto funkcinių sutrikimų ar organinių pakitimų gydymas. Todėl labai svarbus patologinių procesų patogenetinių grandžių ištyrimas veikiant biologiškai aktyvioms medžiagoms.

Žinoma, kad skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės įvairių patologinių trofinių ir proliferacinių procesų atsiradimui (tarp jų ir opaligei) svarbią reikšmę turi organizmo pro-antioksidacinės sistemos būklė, antioksidacinės sistemos pajėgumas, lipidų peroksidacijos procesai [Vainštein ir kt., 1987; Naito, Yoshikawa 2002]. Sergant opalige skrandžio audiniuose ryškiai padidėja lipidų peroksidacijos produktų dėl kraujotakos sutrikimo. Tai, kad gera kraujotaka yra svarbi gleivinės funkcijoms atlikti, dar 1948 m. įrodė Lietuvos chirurgijos patriarchas prof. Pranas Norkūnas, kuris sukūrė ir savo moksliniuose darbuose aprašė skrandžio opaligės atsiradimo teoriją, pagrįstą sutrikusia venine kraujotaka skrandžio ulcerogeninėje zonoje ir mažosios taikinės venų sistemoje.

Opų atsiradimas taip pat siejamas su gleivinėje esančia *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*) infekcija, kuri patologinio proceso metu taip pat sukelia laisvųjų deguonies radikalų atsiradimą [Salim, 1993]. Manoma, kad padidėjęs plazmos laisvųjų radikalų aktyvumas ir tokie rizikos veiksniai kaip rūkymas yra predispozicija įsigalėti *H. Pylori* infekcijai, kuri padidina opos atsiradimo ar recidyvo tikimybę dėl nusilpusios organizmo antioksidacinės sistemos pajėgumo [Phull ir kt., 1998]. Ieškoma būdų, kaip įtakoti pro/antioksidacinę sistemą organizme ar opos židinyje, siekiant pagreitinti opos gijimą, ir sumažinti jos recidyvo tikimybę. Kai kurių augalų veikliosios medžiagos pasižymi antimikrobinu aktyvumu prieš *H. Pylori*, veikia imuninį organizmo atsaką į *H. Pylori* [Akyon, 2002]. Antioksidacinis poveikis, kaip manoma, yra vienas iš opaligės gijimą skatinančių veiksnių.

Vystantis farmacijos mokslui ir pramonei kuriant vis naujus vaistus, jų pritaikymas klinikinėje praktikoje reglamentuojamas griežtų etikos ir moralės normų. Alternatyvioms gydymo priemonėms taikyti klinikinėje praktikoje būtini tie patys tyrimo ir atrankos etapai. Vaistinių augalų vartojimas sveikatos sutrikimams gydyti nors ir turi senas liaudies tradicijas, tačiau šiuolaikinėje mokslinio požiūrio erdvėje be tyrimų nėra pakankamai pagrįstas. Nustatyta, kad paprastojo kaštono ir pelkinės vingiorykštės žieduose gausu flavonoidų ir kitų biologiškai aktyvių medžiagų, pasižyminčių antioksidaciniu poveikiu, ir todėl, mūsų manymu, galinčių teigiamai veikti gastroduodeninės srities gleivinės oksidacinę sistemą. Be to, literatūroje mums nepasisekė rasti duomenų nurodančių, kaip kinta reaktyvūs deguonies dariniai (ROS) gastroduodeninės srities gleivinėje taikant paprastojo kaštono (*Aesculus hippocastanum* (L.) ir pelkinės vingiorykštės (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim) tinktūras patologinių pokyčių korekcijai joje. Todėl manome, kad minėtų tinktūrų poveikio oksidacinei sistemai ištyrimas pažeistoje gastroduodeninėje gleivinėje yra svarbi ir aktuali mokslo sritis, suteikianti galimybę nustatyti oksidantų ir augalinių antioksidantų veikimą joje ir praplėsti šių augalų tinktūrų taikymo galimybes šios patologijos metu.

DARBO TIKSLAS

Nustatyti pakitimus gleivinės oksidacinėje sistemoje, sergant skrandžio ir dvylikapirštės žarnos opalige, ir įvertinti paprastojo kaštono (*Aesculus hippocastanum* (L.) žiedų bei pelkinės vingiorykštės (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim) žiedų tinktūrų poveikį gleivinės oksidacinei sistemai *in vivo*, sukėlus žiurkėms eksperimentinę opaligę, ir *in vitro*, panaudojant tyrimams eksperimentinę ir klinikinę gleivinės biopsinę medžiagą.

MOKSLINIS NAUJUMAS

Pastaraisiais metais vis didesnę reikšmę įgyja natūralūs netoksiški, daugiau saugančiu nei žalojančiu poveikiu pasižymintys augaliniai preparatai. Nors mokslinėje literatūroje pakankamai plačiai aprašyta oksidacinės sistemos reikšmė sergant įvairiomis virškinimo trakto sistemos ligomis, nustatytos proceso pataloginės grandys, ištirtas cheminių vaistų poveikis, tačiau šių susirgimų nemažėja, todėl išlieka svarbi naujų būdų, veikiančių oksidacinę sistemą, paieška. Atliktame darbe, remiantis *in vitro* ir *in vivo* tyrimais nustatytas oksidacinės sistemos rodiklių aktyvumas eksperimente ir klinikoje sergant gastroduodeninės srities ligomis bei įvertintas, paprastojo kaštono (*Aesculus hippocastanum* (L.)) ir pelkinės vingiorykštės (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim) poveikis šiems rodikliams. Pirmą kartą klinikinėje praktikoje nustatytas integralaus rodiklio - vandenilio peroksido kiekis pažeistoje gastroduodeninės srities gleivinėje bei jo korekcijos galimybės taikant paprastojo kaštono (*Aesculus hippocastanum* (L.)) bei pelkinės vingiorykštės (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim) tinktūras, kurios dėl savo potencialių antioksidantinių savybių gali paveikti prooksidacinius procesus pažeistoje gleivinėje.

PRAKTINĖ DARBO REIKŠMĖ

Vaistiniai augalai yra vertinga žaliava augalinių preparatų gamybai ir jų taikymas gastroenterologinių ligų klinikinėje praktikoje, kaip papildas šalia pagrindinės medikamentinės terapijos, leistų pagerinti šių patologijų gydymo galimybes. Remiantis pelkinės vingiorykštės ir paprastojo kaštono tinktūrų *in vivo* ir *in vitro* eksperimentinės ir klinikinės medžiagos tyrimų rezultatais, parodančiais šių augalų tinktūrose esančių biologiškai aktyvių medžiagų teigiamą, antioksidacinį poveikį pažeistos gleivinės oksidacinės sistemos grandims, galima išplėsti minėtų augalų tinktūrų vartojimo galimybes sergantiesiems gastroduodeninės srities ligomis.

GINAMIEJI TEIGINIAI

1. Eksperimentinė skrandžio gleivinės opaligė keičia oksidacinės sistemos būklę tiek fiziologinėmis sąlygomis, tiek ir sisteminio susirgimo metu.
2. Skirtingas oksidacinės sistemos pažeidimo laipsnis atspindi ūmią ar gyjančią opinio pažeidimo stadiją gastroduodeninės srities gleivinėje.
3. Opaligės metu paprastojo kaštono (*Aesculus hippocastanum* (L.)) ir pelkinės vingiorykštės (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim) tinktūros teigiamai veikia gleivinės oksidacinę sistemą, ryškiausiai mažindamos prooksidacinių reakcijų intensyvumą.

DARBO UŽDAVINIAI

1. Ištirti skrandžio gleivinės ir kraujo serumo pro/antioksidacinės sistemos rodiklių kitimą fiziologinėmis ar sisteminio susirgimo (adjuvantinio artrito) sąlygomis, sukėlus žiurkėms eksperimentinę opaligę.
2. Ištirti paprastojo kaštono (*Aesculus hippocastanum* (L.)) ir pelkinės vingiorykštės (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim) žiedų tinktūrų poveikį skrandžio gleivinės oksidacinės sistemos rodikliams.

3. Ištirti pro/antioksidacinės sistemos pokyčius ligoniams, sergantiems gastroduodeninės srities ligomis, ir jų priklausomybę nuo infekuotumo *H. pylori*.
4. Ištirti paprastojo kaštono (*Aesculus hippocastanum* (L.) ir pelkinės vingiorykštės (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim) žiedų tinktūrų poveikį opalige sergančiųjų ligonių gleivinės oksidaciniams procesams.

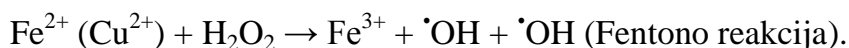
2. LITERATŪROS APŽVALGA

2.1. Trumpa reaktyvių deguonies junginių ir antioksidantų charakteristika

Laisvaradikalinės reakcijos yra svarbus biologinių sistemų homeostazės veiksnys. Padidėję laisvųjų radikalų kiekiai dalyvauja įvairių ligų (vėžio, aterosklerozės, miokardo infarkto, uždegiminių ligų) patogenezėje. Aktyvūs deguonies junginiai yra nestabilūs, lengvai reaguoja su organiniais ir neorganiniais junginiais, sudarydami įvairius peroksidacijos produktus. Reaktyvių deguonies junginių sąveika su lipidais, baltymais, DNR molekulėmis sukelia jų peroksidaciją.

Laisvaradikalinės reakcijos prasideda dėl įvairių reaktyvių deguonies junginių: superoksido radikalo ($O_2^{\cdot-}$), hidroksilo radikalo ($\cdot OH$), azoto monoksido (NO^{\cdot}), peroksilo radikalo (ROO^{\cdot}), vandenilio peroksido (H_2O_2), hipochlorinės rūgšties ($HOCl$), singletinio deguonies (1O_2) ir kitų.

Deguonies molekulei tiesiogiai prisijungus laisvą ar atitrūkusį iš mitochondrijų kvėpavimo grandinės elektroną susidaro superoksido radikalas, randamas audiniuose. Aktyvuotos uždegiminės ląstelės, tokios kaip neutrofilai, monocitai, makrofagai ir eozinofilai gamina ir išlaisvina didelius kiekius superoksido radikalų, vandenilio peroksido per jų NADPH oksigenazės aktyvaciją. [Klebanoff, 1985]. Superoksido radikalas iš audinių pašalinamas veikiant antioksidaciniam fermentui superoksido dismutazei (SOD). Be to, šis radikalas, veikiant metalo jonams, gali virsti į hidroksilo radikalą, pasižymintį ryškiausiomis oksidacinėmis savybėmis:



Hidroksilo radikalas stimuliuoja grandinės lipidų peroksidacijos laisvųjų radikalų susidarymo reakcijas, o jam atakuojant membraninius fosfolipidus, pasigamina peroksilo radikalas. [Conner ir kt., 1995]. Hidroksilo

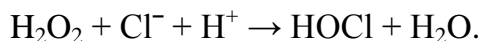
radikalas yra ypač stiprus oksidantas, kuris reaguoja praktiškai su visomis žinomomis biomolekulėmis.

Azoto oksidas dažniausiai susidaro makrofaguose ir, reaguodamas su superoksido radikalu, per tarpinį peroksinitrito joną (ONOO⁻), sudaro hidroksilo radikalą.

Kitas ROS šaltinis, sukeliantis oksidacinį stresą yra vandenilio peroksidas (H₂O₂), kuris atlieka daug fiziologinių funkcijų, yra aktyvus oksidatorius, lengvai difunduoja per ląstelių membranas. Kadangi H₂O₂ visi elektronai suporuoti, jis nėra laisvasis radikalas ir laikomas santykinai mažai reaktyviu oksidaciniu agentu [Conner ir kt., 1995]. Tačiau H₂O₂ pasižymi stipriomis lipofilinėmis savybėmis, greitai prasiskverbia per ląstelių membranas ir reaguodamas su pernešimo metalų jonais sukuria labai reaktyvų hidroksilo radikalą ([•]OH) audiniuose, kuriuose yra padidėjusi Fe ir Cu metalų koncentracija.

H₂O₂ iš ląstelės pašalinamas veikiant fermentams katalazei (KAT) ir gliutaciono peroksidazei (GPX). Fentono reakcijoje H₂O₂ koncentracijos padidėjimas, indukuotas citokinų (TNF-α), esant Fe²⁺ (ar Cu²⁺) katalizuoja didelio reaktyvumo hidroksilo radikalo gamybą [Meneghini, 1998], todėl TNF-α yra svarbus oksidacinio streso žymuo [Augusto ir kt., 2007], o endogeninė peroksidazė, kaip svarbiausias H₂O₂ metabolizuojantis fermentas, vaidina svarbiausią vaidmenį kontroliuojant skrandžio gleivinės oksidacinės sistemos pusiausvyrą [Bhattacharju ir kt. 2002].

Neutrofiluose ir monocituose taip pat yra hemoproteino mieloperoksidazės. Ji patenka į tarpląstelinę terpę, kur, padedant H₂O₂, katalizuoja dviejų elektronų oksidaciją iš Cl⁻ į hipochloro rūgštį (HOCl):



HOCl, pasižyminti stipriomis antibakterinėmis savybėmis, yra nuo 100 iki 1000 kartų reaktyvesnis oksidantas negu superoksido radikalas. HOCl gali reaguoti su O₂^{•-} ir generuoti [•]OH [Ramos ir kt., 1992; Candeias ir kt., 1993]. Jos pašalinimo reakcijoje dalyvauja antioksidantai albuminas ir askorbo rūgštis.

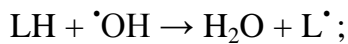
Singletinis deguonis neturi nesuporuotų elektronų, tačiau aktyviai veikia membraninius lipidus ir, oksiduodamas juos, suformuoja lipoperoksidus. Tačiau jo reikšmė uždegiminiuose procesuose nėra pilnai iširta [Anthony ir kt., 2005].

Taigi, ląstelės membranose esantys lipidai – taip pat pažeidžiama laisvųjų radikalų sritis [Kwiecien ir kt., 2002], o lipidų peroksidacija – tai grandininės reakcijos tarp deguonies reaktyvių junginių ir lipidų.

Oksidaciniam procesui vykti reikalingas katalizatorius, paleidžiantis reakciją, kurios metu susidaro pirmasis laisvasis radikalas.

Visas peroksidacijos procesas susideda iš trijų grandžių:

- Pradinėje (iniciacijos) stadijoje RDJ reaguodami su lipidų molekule, sukuria aktyvų lipidų radikalą (L^{\bullet}):



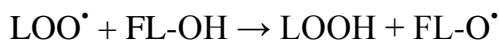
- Perdavimo (propagacijos) stadijoje susidaro aktyvūs lipidų peroksilo radikalai (LOO^{\bullet}), kurie suformuoja lipidų peroksidus ir naujus lipidų radikalus (L^{\bullet}), toliau dalyvaujančius grandininėje reakcijoje:



- Galutinėje (terminacijos) stadijoje galimi trys reakcijų variantai, kurių metu susiformuoja inertiniai produktai lipoperoksidai (LOOL):



Lipidų peroksidacija gali būti nutraukta pradinėje stadijoje dalyvaujant laisvųjų radikalų surišėjams, o perdavimo ar galutinėje stadijose dalyvaujant peroksilo radikalų surišėjams, tokiems kaip augaliniai flavonoidai (FL-OH), fenoliai (α -tokoferolis, polifenoliai flavonoidiniai dariniai (A-OH) [Gutterige 1993]:



$LOO^{\bullet}/L^{\bullet}/LO^{\bullet} + A-OH \rightarrow LOOH/LH/LOH + AO^{\bullet}$ (AO^{\bullet} - fenoksilo radikalas).

Lipidų peroksidacijos intensyvumas vertinamas nustatant lipidų peroksidacijos galutinius produktus (pvz.: maloninį dialdehidą (MDA), dieninius konjugatus) [Kwiecien ir kt., 2007].

Laisvųjų radikalų reakcijas slopina antioksidantai. Pirmoji grandis, sauganti nuo laisvųjų radikalų susidarymo yra antioksidantiniai fermentai SOD, gliutatio peroksidazė (GPX), ceruloplazminas, transferinas, feritinas. Antrąją grandį sudarantys junginiai, kurie ardo ar stabdo laisvųjų radikalų įsijungimą į peroksidacijos reakcijas yra vitaminai E, C, β-karotinas, šlapimo rūgštis, bilirubinas, albuminas. Trečiąją grandį sudaro DNR reparuojantys fermentai, metioninsulfoksido reduktazė, kurie atstato pažeistas ląstelių struktūras. Antioksidantai veikia mažindami deguonies koncentraciją audiniuose, pašalina laisvųjų radikalų reakcijas katalizuojančius metalų jonus, reaktyvius deguonies junginius (pvz.: superoksido radikalą), lipidų peroksidaciją inicijuojančius laisvuosius radikalus, tokius kaip hidroksilo, peroksilo radikalai, nutraukia pradinio etapo grandininę reakciją, pašalina singletinį deguonį. Reaktyvius deguonies junginius stipriausiai šalina antioksidantiniai fermentai (SOD, KAT, GPX). Skiriasi ir antioksidantų veikimo vieta. Antioksidantiniai fermentai SOD, KAT, GPx daugiausia veikia ląstelės viduje. SOD dismutuoja superoksido radikalą į vandenilio peroksido ir deguonies molekules ($2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$), o vandenilio peroksidas suardomas dalyvaujant katalazei ar gliutatio peroksidazei ($2H_2O_2 \xrightarrow{KAT} O_2 + 2H_2O$; $H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{GPx} GSSR + 2H_2O$). Membraniniai antioksidantai, tokie kaip vitaminas E, β-karotinas, kofermentas Q aktyviausiai veikia ląstelės membranose, kuriose pašalina lipofilinius radikalus. Jie yra mažai aktyvūs už ląstelės ribų. Tarpląsteliniai antioksidantai, tokie kaip askorbo, šlapimo rūgštys, bilirubinas, albuminas, transferinas veikia tarpląstelinėje skystoje terpėje.

Augaluose esantys bioorganiniai junginiai flavonoidai pasižymi antioksidantinėmis savybėmis [Kandaswami, Middleton, 1994].

Flavonoidai yra sudaryti iš fenolinių amino rūgščių (fenilalanino, tirozino) darinių ir acetatinių vienetų. Tai pigmentai, nudažantys lapus, žiedus, vaisius. Eksperimentuose įrodytas priešuždegiminis, antialerginis, antimikrobinis, antivirusinis, hepatoprotekcinis, antimutageninis flavonoidų poveikis. [Kandaswami, Middleton, 1994]. Flavonoidai gali dalyvauti Fe ir Cu

metalų sukeltose oksidacinėse reakcijose, taip pat grandinių nutraukimo reakcijose, moduliuoja fermentines sistemas – mieloperoksidazę, NADPH oksidazę, ksantino oksidazę, fosfolipazę, ciklooksigenazę ir kitas.

2.2. Opaligės formavimosi mechanizmai ir pro/antioksidacinės sistemos vaidmuo

Skrandžio ir dvylikapirštės žarnos patologija yra dažnai pasitaikanti rimta sveikatos problema. Anksčiau vyravusi nuomonė, kad opaligė išsivysto dėl druskos rūgšties pertekliaus skrandyje, vėliau pakito nustačius prostaglandinų (PG) vaidmenį [Yuan ir kt., 2006]. Žinoma, kad endogeniniai PG palaiko skrandžio gleivinės vientisumą, slopina hidrochloro rūgštį, stimuliuoja gleivių sekreciją ir bikarboninių anijonų susidarymą [Konturek, 1997]. Jų sintetazę slopina stresas, rūkymas, alkoholis, imunosupresinių ir nesteroidinių vaistų nuo uždegimo vartojimas. Jie yra svarbūs veiksniai, lemiantys skrandžio gleivinės pažeidimus [Smith, Langenbach, 2001; Yuan ir kt., 2006].

Skrandžio gleivinės epitelinių ląstelių sluoksnis yra pirmasis barjeras, apsaugantis ją nuo įvairiausių endogeninės ir egzogeninės kilmės žalojančių poveikių, kurie gali sukelti gastritus, opaligę, skrandžio vėžį. Gleivinės paviršiuje esančios gleivės, druskos rūgštis, bikarbonatai, imunoglobulinų sekrecija yra tie apsauginiai barjerai, kurie saugo ją nuo pažeidimo. Gleivės sulaiko mikroorganizmus, apsaugo gleivinę nuo žalojančio druskos rūgšties, tulžies poveikio ir neutralizuoja hidroksilo radikalą. Iškilus grėsmei įsijungia tiek vietiniai gleivinės paviršiaus, tiek ir viduląsteliniai apsaugos mechanizmai [Grisham ir kt., 1987].

Kaip jau minėjome, tarp įvairių priežasčių sukeliančių gastroduodeninės srities ligas nurodomas stresas, alkoholio vartojimas, *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infekcija, taip pat plačiai naudojami nesteroidiniai vaistai nuo uždegimo, lemiantys reaktyvių deguonies metabolitų, ypač hidroksilo radikalų, gamybą [Kiudelis ir kt., 2001; Naito, Yoshikawa, 2002; Blaser, Attherton,

2004; Kupčinskas, Malfertheiner, 2005; Yuan ir kt., 2006; Augusto ir kt., 2007; Jonaitis ir kt., 2008]. Oksidacinis stresas vyksta dalyvaujant egzogeniniams ir endogeniniams veiksniams, o sutrinkus antioksidacinės sistemos pajėgumui, prasideda lipidų peroksidinimas ir pažeidžiami audiniai [Halliwell ir kt., 1990].

Eksperimentiniai ir klinikiniai tyrimai rodo, kad reaktyvios deguonies rūšys (ROS) vaidina svarbų vaidmenį uždegimo ir virškinamojo trakto opaligės etiopatogenezėje [Galaktionova ir kt., 1998; Nair ir kt., 2000; Demir ir kt., 2003; Baek ir kt., 2004; Tandon ir kt., 2004; Dengiz ir kt., 2007]. Esant normalioms fiziologinėms sąlygoms, lipidų peroksidacija vyksta tam tikru greičiu ir yra viena iš ląstelių metabolizmo grandžių (Didžiapetrienė ir kt., 2000). Maža reaktyvių deguonies dalelių koncentracija yra naudinga organizmui ir dalyvauja vidiniuose ląstelės signalizacijos procesuose bei apsaugo jas nuo mikroorganizmų, tuo tarpu didelė laisvųjų radikalų koncentracija vaidina svarbų vaidmenį eilės ligų patogenezėje [Conner ir kt., 1995; Bauer, Bauer, 1999; Demir ir kt., 2003]. Toksiniai deguonies junginiai, peroksidai, laisvieji radikalai pakeičia ląstelių membranų laidumą, dėl to išsirutulioja uždegimas, sutrika organų funkcijos.

Svarbus laisvųjų radikalų vaidmuo gastroduodeninės gleivinės uždegimo ir opaligės patogenezėje [Nair ir kt., 2000; Tandon ir kt., 2004; Pan ir kt., 2008], kadangi šios zonos proliferacinius ir sekrecinius procesus normoje ir esant patologiniam pažeidimui metu lydi oksidacinės sistemos pokyčiai [Esedov, Mamaev 1998; Muresan ir kt., 2008; Pan ir kt., 2008]. Skrandžio ir žarnyno gleivinės epitelis yra ROS agresijos taikinys, todėl manoma, kad laisvieji radikalai glaudžiai susiję su gastroduodeninės zonos opaligėmis ir gastritu. Eilė patologinių virškinimo sistemos būklių (pvz., išeminis-reperfuzinis pažeidimas, uždegimas, Krono liga, opinis kolitas, opaligė, ksenobiozinės ir vaistų sukeltos ligos), charakterizuojamos reaktyvių deguonies junginių (ROS) susidarymu [Nilsson, 1994; Papparella ir kt., 1997; Maor ir kt., 2008].

ROS, tokie kaip superoksido anijonas ($O_2^{\bullet-}$), vandenilio peroksidas (H_2O_2) ir hidroksilo radikalas (OH^{\bullet}) yra stiprūs pažeidimo agentai, lemiantys didžiulę audinių pažeidimo įvairovę [Halliver, Gutteridge, 1990; Das ir kt., 1998]. Nors daug tyrimų atlikta norint įvertinti laisvų deguonies radikalų vaidmenį opaligės ir gastrito metu, tačiau dauguma iš jų atlikti naudojant gyvūnų modelius [Yoshikawa ir kt., 1989; Kwiecien ir kt., 2002; Arend ir kt., 2005; Muresan ir kt., 2008; Pan ir kt., 2008]. Parodyta, kad ROS dalyvauja skrandžio gleivinės pažeidime, sukeltame etanolio [Pihan ir kt., 1987], nesteroidinių vaistų nuo uždegimo [Vaananen ir kt., 1991; Yoshikawa ir kt., 1993; Rostom ir kt., 2000], *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) [Davies ir kt., 1994; Janulaityte-Gunther ir kt., 2003] ir vystantis streso sukeltoms opaligėms [Phull ir kt., 1995; Das ir kt., 1993, 1997; Levenstein, 1999]. Lipidų peroksidacija (LPO), kaip deguonies radikalų ir polinesočių rūgščių reakcijos rezultatas, priskiriama prie skrandžio gleivinę atakuojančių veiksnių [Hung, 2000; Kwiecien ir kt., 2004]. ROS pažeidžia membranų struktūrą sukeldamas lipidų peroksidaciją jose, didina membranų pralaidumą, sukelia epitelio bazinės membranos pažeidimus, ląstelinio metabolizmo pokyčius, ūmius skrandžio gleivinės pažeidimus ir pablogina opų gijimą [Ames ir kt., 1993]. Pažeidus membranų struktūras, keičiasi jų pralaidumas, fermentų ir receptorių aktyvumas, pakinta ląstelių aktyvacija.

Laisvieji radikalai gali susidaryti aktyvuotų uždegiminių ir kraujagyslių endotelio ląstelių hipoksantino-ksantino oksidazės sistemoje, dėl pakitusio elektronų transporto mitochondrijose ir lipoksigenazinio kelio arachidono rūgšties metabolizme [Winrow ir kt., 1993]. Lipoksigenazės kelias aktyvuotose uždegiminėse ląstelėse gali dalyvauti gleivinės pažeidimo patogenezėje. Skrandžio gleivinės ląstelės metabolizuoja arachidoninę rūgštį tiek ciklo-oksigenazės, tiek lipoksigenazės būdu, o sutrikus jos metabolizmui, skrandžio gleivinėje atsiranda uždegiminių ląstelių infiltratai [Drake ir kt., 1998]. Stiprių oksidantų šaltinis žarnyne yra granulocitai (neutrofiliniai polimorfonukleariniai leukocitai). Labiausiai aktyvuotos šios ląstelės gali išskirti superoksidą apytikriai 35 $\mu\text{mol}/\text{min}$ kilogramui audinio ir tiesiogiai ar netiesiogiai sukelti

toksinį poveikį. Aktyvuoti granulocitai taip pat išskiria įvairius fermentus mieloperoksidazę, kolagenazę ir elastazę, kurie gali pažeisti parenchimines ląsteles ir kapiliarus.

Klinikinėje praktikoje labai svarbu tai, kad ūmius skrandžio gleivinės pažeidimus sukelia nesteroidinių vaistų nuo uždegimo vartojimas. Literatūros duomenys rodo, kad ROS dalyvauja atsirandant ūmioms skrandžio opaligėms asmenims, vartojantiems šiuos vaistus. Skrandžio gleivinės uždegiminiuose pažeidimuose svarbus neutrofilų, kurie gamina oksidantus, vaidmuo [Yoshikawa, Naito, 2000]. ROS gamina aktyvuoti neutrofilai per ksantin-ksantinoksidazės sistemą, kas vaidina svarbų vaidmenį skrandžio pažeidimų, sukeltų ibuprofeno, patogenezėje [Jiménez ir kt., 2004]. Skrandžio pažeidimai, atsirandantys po piroksikamo ar meloksikamo vartojimo, atsiranda sumažėjus superoksido dismutazės (SOD) aktyvumui ir dėl glutationo homeostazės pokyčių skrandžio gleivinėje [Villegas ir kt., 2002].

Uždegiminės reakcijos, sukeltos indometacinu yra svarbus ROS šaltinis skrandžio audinyje [Dengiz ir kt., 2007]. Ūmių skrandžio opų atsiradimą po šio vaisto vartojimo [Bandyopadhyay ir kt., 2001; Muresan ir kt., 2008] lemia oksidacinis stresas. Žiurkėms, davus 25-100 mg/kg indometacino, atsiranda ūmus skrandžio gleivinės išopėjimas, padidėja lipoperoksidacija, sumažėja SOD aktyvumas [Odobasuglu ir kt., 2006]. Manoma, kad indometacinas pasižymi prooksidaciniu aktyvumu, sukelia lipidų peroksidaciją ir sumažina glutationo peroksidazės aktyvumą, generuodamas ROS, ir, tuo būdu, trukdydamas veikti gleivinės ląstelių endogeninėms antioksidacinėms sistemoms [Takeuchi ir kt., 1991; Yoshikawa ir kt., 1993; Naito ir kt., 1998]. Krishnendu su bendraautoriais paskelbė, kad taikant indometaciną, pasigamina H_2O_2 , kuris veikia kaip mediatorius, slopindamas metaloproteinazės-2 (MMP-2) geno transkripciją, sumažindamas MMP-2 aktyvumą sintezės ir sekrecijos lygiuose ūmių skrandžio opų atvejais [Krishnendu ir kt., 2006]. Eksperimentiniai duomenys rodo, kad svarbiausią vaidmenį indometacinu sukeltuose gleivinės pažeidimuose vaidina neatitikimas tarp ROS produkcijos ir jos pašalinimo

[Elliot, Wallace, 1998; Basiviredy ir kt., 2003; Halici ir kt., 2005; Bayir ir kt., 2006].

Kiti veiksniai, dalyvaujantys indometacinu sukeltame skrandžio gleivinės pažeidime, yra citoprotekcinio prostaglandino (PG) sintezės slopinimas (per ciklooksigenazės-1 (COX-1), bet ne COX-2) [Whittle, 1981]. Kadangi endogeniniai PG vaidina svarbų vaidmenį palaikant skrandžio gleivinės vientisumą, slopinant druskos rūgštį, stimuliuojant gleivių sekreciją ir bikarboninius anijonus [Konturek, 1997], PG sintezės slopinimas nesteroidiniais vaistais nuo uždegimo yra biocheminis veiksnys, kuris lemia skrandžio pažeidimus [Smith, Langenbach, 2001].

Atliktos studijos rodo, kad prooksidantai greitai blokuoja gleivinės ląstelių antioksidacines sistemas, tuo sukeldami ROS susidarymą, lemiantį oksidacinį pažeidimą [Figge, Figge, 1990; Elliot, Wallace, 1998].

Lipidų peroksidacijos sistemos funkcionavimas fiziologinėmis sąlygomis ir kilus patologiniam procesui, taip pat ir sergant dvylikapirštės žarnos opalige, priklauso ir nuo organizmo AOA. Todėl antioksidacinės apsaugos sistemos, įskaitant antioksidacinius fermentus, maistą ir vaistus, yra svarbios apsaugant nuo deguonies kilmės laisvųjų radikalų toksinių poveikių, sukeliančių daugelį ligų, tarp jų ir skrandžio-žarnyno patologiją. Pirmoji apsaugos nuo ROS linija yra fermentiniai antioksidantai, tokie kaip superoksido dismutazė (SOD), katalazė (KAT), glutationo peroksidazė (GPX). Parodyta, kad SOD aktyvumas žiurkių skrandžio audiniuose yra sumažėjęs vartojant nesteroidinius vaistus nuo uždegimo [Figge, Figge, 1990; Elliot, Wallace, 1998; Basiviredy ir kt., 2003; Dengiz ir kt., 2007].

Kadangi opaligė priskiriama lėtiniais susirgimams, kyla esminis klausimas, ar kinta laisvaradikalinių procesų aktyvumas ir antioksidacinės apsaugos lygis, didėjant jos trukmei, ir, kaip kinta šie rodikliai jai gyjant. Iki šiol nepakankamai ištirta, kokie mechanizmai sukelia lipidų peroksidacijos suaktyvėjimą ir antioksidacinio aktyvumo pakitimą gastroduodeninės srities gleivinėje atsirandant opoms ir koks ryšys tarp lipidų peroksidacijos, antioksidacinės apsaugos sistemos aktyvumo ir opos. Ieškoma būdų, kaip

įtakoti pro/antioksidacinę sistemą organizme, ar opos židinyje, siekiant pagreitinti opos gijimą, sumažinti jos atsiradimo bei recidyvo tikimybę.

Lyginamasis lipidų peroksidacijos komponentų ir AOA sistemos tyrimas įvairiose opaligės vystymosi stadijose leistų išsiaiškinti opinio proceso aktyvumo eigą ir pagrįsti adekvačius gydymo metodus, įjungiant į gydymo procesą ir antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčius preparatus. Vieni iš tokių junginių galėtų būti augaliniai bioflavonoidai, pasižymintys stipriomis antioksidacinėmis savybėmis. Todėl mūsų darbo tikslas ir buvo įrodyti augalinių medžiagų veiksmingumą patologinio proceso, susijusio su laisvaisiais radikalais, metu, o šiam tikslui pasirinktos paprastojo kaštono žiedų ir pelkinės vingiorykštės žolės ir žiedų tinktūros, turtingos biologiškai aktyviomis medžiagomis, pasižyminčiomis šiomis savybėmis.

2.3. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) vaidmuo opaligių atsiradimui

Literatūriniai duomenys nurodo ne tik padidėjusį laisvųjų radikalų kiekį ir oksidacinį foną formuojantis opos židiniui, bet ir *H. pylori*, kaip vieną iš pagrindinių veiksnių [Esedov, Mamajev, 1998]. Teigiama, kad *H. pylori* infekcija ir nesteroidiniai vaistai nuo uždegimo yra svarbiausi skrandžio ir dvylikapirštės žarnos opaligės atsiradimo veiksniai [Kawahara ir kt., 2001; Arend ir kt., 2005; Mashimo ir kt., 2006; Yuan ir kt., 2006; Andersen ir kt., 2005, 2007; Augusto ir kt., 2007]. Nustačius *H. pylori* gastroduodeninėje gleivinėje, pasikeitė požiūris į opaligės atsiradimo priežastis [Marshall ir kt., 1984]. *H. pylori* išskyrimas ir identifikavimas atvėrė galimybes tirti opos atsiradimo mechanizmus eksperimentinėmis sąlygomis. Dabartiniu metu neabejojama, kad ši infekcija yra etiologinis veiksnys, sukeliantis skrandžio ligas [Atherton, 1997; Drake ir kt., 1998; Kawahara ir kt., 2001; Arend ir kt., 2005].

Nors dauguma autorių teigia, kad *H. pylori* sukelia patologiją skrandžio gleivinėje, tačiau iki šiol neaiškus daugiapakopis uždegimo mechanizmas [Mashimo ir kt., 2006] Skirtingai nei kiti mikrobiniai patogenai, *H. pylori*

praėjusi gleivių barjerą, sukelia padidėjusią druskos rūgšties sekreciją, skatindama gastrino ir pepsino išsiskyrimą parietalinėse ląstelėse, esančiose skrandžio urve [Graham ir kt., 1993]. *H. pylori* gali tiesiogiai pažeisti gleivinės ląsteles, sukeldama uždegimą, kuriam vystantis dalyvauja gleivinės nespecifinės apsauginės sistemos, aktyvuojamas imuninis atsakas. Uždegiminis atsakas, indukuotas *H. pylori* infekcijos, manoma, nesukelia apsauginio imuniteto.

Tačiau galimas ir kitas pažeidimo mechanizmas, kai dėl *H. pylori* agresijos padidėja ROS kiekis, kuris pažeidžia gleivinės ląsteles ir lemia lėtinį jos uždegimą [Santra ir kt., 2000; Cianciarelli ir kt., 2002]. Tai, kad *H. pylori* infekcija yra susijusi su reaktyviomis deguonies molekulėmis, sukeliančiomis oksidacinį stresą ir gastroduodeninę patologiją, nurodo visa eilė autorių [Santra ir kt., 2000; Bhattacharjee ir kt., 2002; Cianciarelli ir kt., 2002]. Pagrindinė gleivinės uždegimo priežastis gali būti padidėjęs lipidų peroksidacijos intensyvumas ląstelių membranose, kurį skatina ROS, atsirandantys dėl aukščiau minėtos *H. pylori* sąveikos su gleivine.

Lėtinė *H. pylori* infekcija sukelia DNR pažeidžiančių laisvų radikalų produkciją [Drake ir kt., 1998; Akyön, 2002]. Disbalansas tarp bakterinių virulentiškumo faktorių ir apsaugos mechanizmų daliai populiacijos sukelia skrandžio ligas [Atherton ir kt., 1995; Augusto ir kt., 2007]. Daugelyje tyrimų, siekiant įvertinti bakterijų reikšmę skrandžio ligoms, nustatyta, kad *H. pylori* padermės, turinčios *cagA*⁺/*vacAs1* genotipą yra daug virulentiškesnės, nei kiti genotipai. Kai kuriuose tyrimuose skelbiama, kad *vacAs1* padermė dažniausiai yra toksikogeninė ir virsta *cagA*⁺ [Atherton, 1997; Atherton ir kt., 1995]. Infekcija, susijusi su *cagA*⁺ *H. pylori* paderme [Augusto ir kt., 2007], lemiančia stipresnį skrandžio uždegimą, koreliuoja su padidėjusiu IL-8 kiekiu ir didina dvylikapirštės žarnos opaligės riziką [Atherton 1997] bei sustiprina gastritą [Shimoyama, Crabtree 1998].

H. pylori metabolitai, aktyvuodami neutrofilus ir didindami reaktyvių deguonies junginių kiekį, slopina skrandžio peroksidazės aktyvumą, todėl didėja H₂O₂, kuris palaiko didesnį oksidacinį foną pažeidimo vietoje

[Bhattacharjee ir kt., 2002]. Endogeninė peroksidazė, svarbiausias H_2O_2 metabolizuojantis fermentas, vaidina svarbų vaidmenį kontroliuojant skrandžio gleivinės oksidacinį pažeidimą [Bhattacharjee ir kt., 2002]. Skrandžio epitelyje bakterija indukuoja IL-8, IL-10 ir kitų citokinių gamybą [Noach ir kt., 1994; Arakawa ir kt., 1998; Andersen ir kt., 2005], kuri lemia gausų toksinių ROS atsiradimą, su ryškia uždegiminių ląstelių infiltracija, o atsiradęs oksidacinis procesas, sukeltas fagocitinių ląstelių, gali suardyti skrandžio audinį [Noach ir kt., 1994; Augusto ir kt., 2007].

Gastrito, sukulto *H. pylori*, metu šalia prouždegiminių citokinių ($TNF-\alpha$, IL- β ,) išlaisvinamų iš makrofagų, ir IFN- γ – iš Th1 limfocitų, įtraukiami Th2 limfocitai, kurių produktas IL-10, pasižymi priešuždegiminėmis savybėmis [Lembo ir kt., 2001]. Be to, polisacharidas iš išorinės *H. pylori* membranos veikia kaip monocitų chemoatraktantas ir sukelia laisvų radikalų, IL- β , IL-6, IL-8 ir $TNF-\alpha$ išsilaisvinimą. Sergant *H. pylori* sukeltomis skrandžio ligomis indukuojamas svarbus oksidacinio streso enzimas Nox1 (NADH oksidazė) [Kawahara ir kt., 2001], kuriam veikiant pasigamina superoksido anionas (O_2^-) ir H_2O_2 [Arnold ir kt., 2001]. *H. pylori* taip pat indukuoja ROS produkciją skrandžio epitelinėse ląstelėse, tuo padidindama gleivinės pažeidimą [Bagchi ir kt., 1996]. Be to, pati *H. pylori* generuoja didelius kiekius O_2^- , bakteriocidinio azoto monoksido (NO), uždegiminių ląstelių aktyvumui nuslopinti [Nagata ir kt., 1998]. Kai kurie autoriai skelbia, kad IL-10 ir IL-12 ekspresija yra susijusi su infekuotumu *H. pylori* [Hida ir kt., 1999; Meyer ir kt., 2000], nes šių citokinių randama tik *H. pylori* teigiamuose bandiniuose [Bauditz ir kt., 1999; Augusto ir kt., 2007].

Iki šiol nėra gerai žinoma, kaip *H. pylori* produktai ir uždegimas veikia skrandžio ląstelių gebėjimą apsisaugoti nuo ROS sukeltamų pažeidimų. Yra duomenų, kad pacientai su skrandžio opomis turi labai žemus antioksidantinės apsaugos lygius, lyginant su ligoniais sergančiais gastritu su neinfekuota *H. pylori* gleivine [Nair ir kt., 2000]. Tačiau autoriai mano, kad antioksidantų sumažėjimas yra nespecifinis atsakas, nesusijęs su *H. pylori* infekcija.

Reikia pripažinti, kad literatūroje yra mažai duomenų, skirtų *H. pylori* infekcijos vaidmeniui inicijuojant laisvų radikalų susidarymą gastroduodeninės zonos gleivinėje [Esedov, Mamaev 1998; Arend ir kt., 2005].

2.4. Augalinių preparatų naudojimas virškinamojo trakto ligoms gydyti

Įvairūs junginiai aptinkami augaluose, tokie kaip flavonoidai, taninai, kumarinai, ksantenai, procianidinai, kurie įvairiomis dozėmis geba neutralizuoti laisvuosius radikalus, galėtų būti vartojami laisvųjų radikalų sukeltoms patologijoms gydyti [Czinner ir kt., 2001]. Natūralių antioksidantų šaltiniu pripažįstami augalai ar jų mišiniai gali tapti priemone slopinant oksidacinį stresą ir ligos sukeltą lipidų peroksidaciją [Nakatani, 2000] sergant virškinamojo trakto ligomis.

Tyrimai rodo, kad įvairios augalinės substancijos pasižymi ne tik apsaugančiu skrandį poveikiu, bet ir sustiprina žaizdų gijimą [Zayachkivska ir kt., 2005]. Priešuždegiminis jų poveikis pasireiškia slopinant neutrofilų/citokininų kaskadą skrandžio-žarnyno trakte [Alarcón de la Lastra ir kt., 1995], pagreitinant audinių atsistatymą per įvairių augimo faktorių ekspresiją [Kim ir kt., 2004], skatinant antioksidantinį aktyvumą ir šalinant ROS [Kim ir kt., 2004; Liu ir kt., 2002; Pastrada-Bonilla ir kt., 2003].

Cissampelos pareira (L.) Hirsuta spiritinis ekstraktas išbandytas naudojant įvairius ekperimentinius opaligės modelius. Skrandžio gleivinę apsaugančiu ir lipidų peroksidaciją mažinančiu veikimu pasižymėjo iš augalo išskirtas flavonoidas kvercetas. [Amresh ir kt., 2007].

Fenoliniai dariniai antocianinai, randami *Aronia melanocarpa* vaisiuose, pasižymi antioksidacinėmis, priešuždegiminėmis bei gastroprotekcinėmis savybėmis. Vartojami nedidelėmis dozėmis (10-20 ml/kg), jie mažina MDA, skatina gleivių sekreciją sukėlus eksperimentinę opaligę indometacinu [Valcheva-Kuzmanova ir kt., 2005]. Česnako aliejinė ištrauka slopina lipidų peroksidaciją, skatina SOD, KAT, gliutatio peroksidazės aktyvumą, mažina

skrandžio gleivinės pažeidimo indeksą, sukėlus eksperimentinę opaligę etanoliu [Khosla ir kt., 2004].

Lafoensia pacari St. Hil. augalo, paplitusio Brazilijoje, priešūždegiminės ir gastroprotekinės savybės nustatytos eksperimentuose, sukėlus skrandžio opas indometacinu ir etanoliu [Solon ir kt., 2000]. Šio augalo tinktura mažina sukeltų opų kiekį. Be aprašytų, augale esančių, taninų, steroidų, triterpenų ir saponinų autoriai išskyrė elaginę rūgštį, kuri pasižymi gastroprotekinėmis ir priešūždegiminėmis savybėmis. Kito Argentinoje augančio augalo *Artemisia douglasiana* Besser vandeninis ekstraktas vartojamas skrandžio opaligėi, odos pažeidimams gydyti [Piezzi ir kt., 1995]. Augalo veiklioji medžiaga dehidroleikodinas, priklausanti seksviterpenų klasei, skatina skrandžio gleivinės glikoproteinų sintezę, apsaugo pastarąją nuo pažeidimo etanoliu. Nors tikslus veikimo mechanizmas nėra nustatytas, manoma, kad ji dalyvauja endogeninių prostaglandinų sintezėje [Guardia ir kt., 2003].

Juodosios arbatos katechinai slopina ūmius skrandžio gleivinės pažeidimus, sukėlus opaligę etanoliu ar stresu, skatina lėtinės opaligės, sukeltos acto rūgštimi, gijimą [Hamaishi ir kt. 2006]. Kaip vieną iš apsauginių veiksnių, autoriai nurodo lipidų peroksidacijos produktų mažėjimą, o tyrimuose *in vitro* superoksido anijonų neutralizaciją.

Plačiai Ajurvedos medicinoje naudojamas augalas *Picrorhiza kurroa*, nors autoriai ir nenustatė jo veikliųjų medžiagų sudėties, pasižymi gastroprotekinėmis savybėmis mažinant lipidų peroksidaciją ir baltymų oksidaciją, didinant gleivių, gleivinės prostaglandinų PGE₂ ir COX-1 sintezę, epidermio augimo faktoriaus ekspresiją, sukėlus eksperimentinę opaligę indometacinu [Banerjee ir kt., 2008].

Klinikiniais tyrimais įrodyta eilės vaistingųjų augalų nauda gastroduodeninės zonos patologijai gydyti [Gurbuz ir kt., 2000; Kanner, Lapidot, 2001].

Daugelyje šalių įvairiausi augalinės kilmės gastroprotektoriai naudojami klinikinėje ir liaudies medicinoje dėl teigiamo poveikio skrandžio-žarnyno

gleivinei. Kinijoje ir Japonijoje naudojamos polifenolinės tinktūros, tokios kaip Sopharadino ekstraktai, kurių sudėtyje gausu flavanoidų, bei jų sintetiniai dariniai, plačiai taikomi pepsinių opų terapijoje, o taip pat naudojami kaip maisto priedai ar maistiniai papildai, nes stipriai slopina PG metabolizmą ir vazokonstrikcinius leukotrienus [Zayachkivska ir kt., 2005]. Šis agentas sustiprina lėtinių skrandžio ir dvylikapirštės žarnos opų gijimą, padidindamas gleivinės PG kiekį, matomai susijusį su PG hidrolizuojančio fermento 15-OH-PG dehidrogenazės slopinimu.

Augalų gydomosios savybės pirmiausia siejamos su veikliosiomis medžiagomis ypač flavonoidų klase. Nustatyta virš 4000 flavonoidinių medžiagų, kurių pagrindinę grupę sudaro flavonai, izoflavonai ir 2,3-dihydroflavonų dariniai flavanonai. Flavonoidų dariniai, turintys savo struktūros žieduose daug OH grupių, turi stiprų afinitetą peroksilo radikalams ir geba surišti superoksido anioną (O_2^-), hidroksilo (OH^\cdot), alkoksilo (RO^\cdot) radikalus [Alanko ir kt., 1999]. Be tiesioginio antioksidacinio poveikio neutralizuojant susidariusius aktyvius radikalus terpėje, flavonoidų antioksidacinis aktyvumas pasireiškia surišant laisvus metalo jonus (Ca^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+}), kurie gali inicijuoti lipidų peroksidinimą [La Casa ir kt., 2000].

Savo darbe mes norėjome patvirtinti teorinę prielaidą, kad paprastojo kaštono (*Aesculus hippocastanum* (L.)) ir pelkinės vingiorykštės (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim) tinktūros, gausios antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčiomis medžiagomis (bioflavonoidai ir kitos polifenolinės medžiagos) įtakoja gastroduodeninės srities gleivinės pro/antioksidacinės sistemos būklę eksperimente ir klinikoje, ligoniams sergantiems virškinamojo trakto ligomis.

2.4.1. Paprastojo kaštono (*Aesculus hippocastanum* (L.)) farmakoterapinės savybės

Liaudies medicinoje paprastasis kaštonas turi senas naudojimo tradicijas. Sėklos, lapai ir žiedai vartojami uždegimui slopinti, veninės kraujotakos sutrikimams gydyti, vaisių apvalkalai – vietškai gydant odos opas

ir odos vėžį. Tikima, kad paprastasis kaštonas sumažina skausmą ir uždegimą sergant artritais arba reumatu. Tradicinės paprastojo kaštono ištraukos yra gaminamos iš vaisių, kuriuose yra didelė escino koncentracija [Chandler, 1993]. Klinikinėje medicinoje dažniausiai vartojamas standartizuotas sėklų ekstraktas (16-20% triterpeninių glikozidų, skaičiuotų pagal esciną [Ulbricht, 2005] lėtiniam venų nepakankamumui gydyti [Blummenthal, 1998]. Be to, paprastojo kaštono vaistiniai preparatai vartojami flebitų, hemorojaus, edemos (po traumų arba chirurginių operacijų), naktinių kojų raumenų traukulių, „lojančio“ kosulio ir diarėjos gydymui, taikant juos išoriškai ir į vidų [Chandler, 1993].

Turtinga ir paprastojo kaštono biologiškai aktyvių medžiagų cheminė sudėtis. Sėklose gausu kumarinų, flavonoidų, saponinų, kondensuotų taninų, chininų, alantoino, amino rūgščių, sterolių, riebiųjų rūgščių [Matsuda, Li ir kt., 1997; Sculz, 1998]. Nustatyta virš 30 saponinų (Ia, Ib, Iia, Iib, IIIa ir kt.), α - ir β -escinai [Heinrich, 2004]. Manoma, kad pagrindinė aktyviausia sudėtinė dalis yra saponinas escinas (triterpeninių saponinų glikozidų heterogeninis mišinys). Be to, randamas eskulinas (toksinis kumarino glikozidas), kuris paprastai pašalinamas gaminant daugelį vaistinių preparatų. Lapuose randami kumarino glikozidai, tokie kaip eskulinas, skopolinas ir fraksinas, bei flavonolio glikozidai – kvercetas, rutinas ir izokvercetas, 3-arabinozidas, kamferolio glikozidai, taninai, escino pėdsakai, poliprenoliai, amino rūgštys, riebiosios rūgštys, steroliai (citosterolis, stigmasterolis, kampesterolis, leukoantocianai) [Bisset, 1994].

Žieduose nustatyti kamferolio ir flavonolio glikozidai (kvercetas, izokvercetas, rutinas), escinas, cholinas, purino dariniai [Hoppe, 1981]. Esciną žieduose nurodo ne visi autoriai.

Sėklų ekstrakto veikimo mechanizmas iki šiol nėra pilnai išaiškintas, tačiau jau nustatyta, kad paprastojo kaštono vaisių ištrauka tiesiogiai veikia tris patofiziologinius procesus – lėtinį venų uždegimą, venų tonusą ir kapiliarų pralaidumą [Sato ir kt., 2006; Pittler, Ernst, 1998], kurie yra susiję su leukocitų migracija į pažeistus audinius, dalyvaujant chemotaktiniams faktoriams [Methlie, Schjott, 2009]. Kaip ir daugelyje augalinių preparatų, šioje ištraukoje

yra randama daugybė cheminių komponentų. Paprastojo kaštonų sėklų vaistinių preparatų poveikį dažniausiai lemia escinas. Tyrimais nustatyta, kad jis inhibuoja fermentų, svarbių kapiliarų pralaidumui, aktyvumą. Du iš šių fermentų hialuronidazė ir elastazė suardo proteoglikanus [Pittler, Ernst, 1998], kurie sudaro pagrindinę ekstraląstelinio matrikso dalį. Proteoglikanai svarbūs palaikant kraujagyslių endotelio vientisumą. Patologinio proceso metu šie fermentai ardo kraujagyslių endotelį, tačiau tuo pat metu vyksta ir ekstraląstelinių ir ląstelinių komponentų biosintezė, o tai lemia normalų atsistatymo procesą. Escinas reguliuoja šių fermentų veikimą ir stabdo proteoglikanų skaldymą, padėdamas atstatyti ne tik kraujagyslių endotelio, bet ir aplinkinių audinių pusiausvyrą ir vientisumą, bei mažindamas membranų pralaidumą [Szapary, 2000]. Be to, jis inhibuoja hialuronidazę, tokiu būdu mažindamas jungiamojo audinio pralaidumą ir padėdamas atstatyti pusiausvyrą tarp sintezės ir destrukcijos procesų [Faccino ir kt., 1995]. Lėtinis uždegimas, padidintas endotelio pralaidumas susiję su didele intersticinių leukocitų infiltracija pažeistuose audiniuose, kurią lemia suaktyvėję uždegimo chemotaktiniai faktoriai. Manoma, kad kai kurie paprastojo kaštono vaisių ištraukos komponentai gali stabdyti šį procesą, slopindami chemotaktinius faktorius, kurie dalyvauja uždegime, ir taip mažinti leukocitų aktyvumą bei jų migraciją į pažeistus audinius [Matsuda ir kt., 1997]. Be to, neutrofilų migracija priklauso nuo venų endotelio aktyvumo. Nustatyta, kad escinas mažina adhezijos molekulių ant endotelio ląstelių paviršiaus aktyvumą ir neutrofilų išėjimą pro endotelį į audinius [Bougelet ir kt., 1998]. Japonų mokslininkai prieš uždegiminį kaštono sėklų ekstrakto poveikį sieja su arachidono rūgšties metabolizmu. *In vivo* krotano aliejumi sukkelto uždegimo metu, kaštono ekstraktas mažina ciklooksigenazės (COX2) aktyvumą, mažai įtakodamas COX1. *In vitro* tyrimai rodo, kad nei escinas, nei kiti saponinai, nei kumarino dariniai nesuaktyvina arachidono rūgšties metabolizmo uždegimo metu [Sato ir kt., 2006].

Escinas sumažina labai padidėjusį superoksido ir leukotrieno B₄ kiekį hipoksijos metu. Parodyta, kad įvairūs paprastojo kaštono vaisių ištraukos

komponentai yra antioksidantai [Sato ir kt., 2005] ir mažina fermentinę ir nefermentinę lipidų peroksidaciją, kuri sukelia subląstelinius pažeidimus [Masaki ir kt., 1995; Guillaume, Padioleau, 1994]. Tiriant odos irimo ir opų susidarymo patofiziologiją pastebėta, kad šie procesai yra susiję su keturių katepsinų kiekio padidėjimu opėjančiuose audiniuose. Po gydymo (14-16 dienų) paprastojo kaštono ištrauka, reikšmingai sumažėjo visų keturių tipų katepsinų kiekis ir pagerėjo lizosominių membranų stabilumas [Gostishchev ir kt., 1990]. Escinas veikia ir kaip histamino antagonistas, mažina audinių mukopolisacharidų katabolizmą, didina vazokonstriktinio prostagladino $PGF_{2\alpha}$ atsipalaidavimą [Longiave, 1978; Sirtori, 2001]. Paprastojo kaštono preparatai sulaiko kraujavimą, stabdo uždegimą. [Pittler, Ernst, 1998]. Paprastojo kaštono preparatai slopina eksudaciją ir edemos vystymąsi [Hitzenberger, 1989]. Escino preparatai taikomi ir sausgyslių patempimų gydymui [Gostishchev ir kt., 1990]. Manoma, kad vaisių ištraukos mažina skausmą sergant artritu ar reumatu. Sėklų ekstrakto kompresai buvo naudojami odos opoms bei odos vėžiui gydyti. Preparatai gali būti naudojami tiek *per os*, tiek išoriškai, kaip losijonai, aliejus, ar gelis [Chandler, 1993]. Escino preparatus rekomenduojama vartoti trumpai vienkartinėmis dozėmis iki 50 mg gryno escino, kadangi nėra žinoma, kurią dalį escino pasisavina organizmas [Tyler, 1994]. Yra eksperimentinių duomenų apie kaštono preparatų antitrombozinį poveikį, kurį sukelia hidroksikumarinų sudėtinė dalis eskulinas [Ulbricht, 2005]. Aprašytas keleto kaštono flavanoidų priešvirusinis veikimas slopinant respiracinį sinticinį ir gripo virusus [Wei, 2004]. Tačiau yra ir darbų, kuriuose autoriai, aprašo kaštono preparatų sukeltus pašalinius reiškinius nervų, raumenų, sąnarių ir endokrininėje sistemoje [Greeske, Pohlmann, 1996].

Farmacijos pramonė gamina nemažai vaistinių preparatų, tokių kaip *Aescusan*, *Dr. Theiso* venų želė, *Venitan* kremas ir kt., skirtų tik veninės kraujotakos sutrikimų ar su jais susijusių uždegimų gydymui [Ottillinger, Greeske, 2001].

Reikia pabrėžti, kad mokslinėje literatūroje detaliau aprašyta tik paprastojo kaštono preparatų įtaka kraujotakai, kurios pastovumas labai

svarbus užtikrinti gastroduodeninės gleivinės mitybines ir reparacines funkcijas. Nors atlikta nemažai eksperimentinių ir *placebo* kontroliuotų klinikinių tyrimų, tačiau biologiniai šių preparatų veikimo mechanizmai nėra aiškūs [Pittler, Ernst, 1998; Sato ir kt., 2006].

Apie paprastojo kaštono žiedų tinktūros poveikį kitoms biologinėms sistemoms randame tik pavienius duomenis gautus eksperimentiniuose tyrimuose [Jasiuleviciute ir kt., 2002; Keturkiene ir kt., 2000; Leonavičienė ir kt., 2008]. Nėra duomenų ir apie paprastojo kaštono žiedų veikliųjų medžiagų antioksidacinį, priešuždegiminį poveikį gastroduodeninei sistemai. Todėl vienas iš mūsų darbo uždavinių, įvertinus literatūroje sukauptus duomenis apie kitas kaštono vaisių poveikio savybes, buvo būtent paprastojo kaštono žiedų tinktūros įtakos gastroduodeninės srities gleivinės oksidacinei sistemai įvertinimas fiziologinėmis ir pataloginėmis sąlygomis.

2.4.2. Pelkinės vingiorykštės (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim) farmakoterapinės savybės

Drėgnose Lietuvos pievose aptinkama pelkinė vingiorykštė priklauso Rocaceae šeimai. Tai daugiametis žolinis 0,6–1 m aukščio augalas. Žiedynas – maloniai kvepia, gelsvai baltos spalvos šluotelė su pailgėjusiomis šoninėmis šakomis. Vaistinė žaliava žiedai ir viršutinė antžeminė dalis ruošama augalui žydint birželio – liepos mėnesiais [Jankevičienė, 1987].

Pelkinės vingiorykštės žiedai bei žiedynų viršūnės nuo seno yra naudojami vaistiniams preparatams gaminti, nors yra istorinių duomenų, kad gydymui buvo naudotos ir šaknys [Zeylstra, 1998].

Pelkinė vingiorykštė yra augalinis tanidų šaltinis (10–20 procentų elagotanidų) [Bruneton, 1995; Chevallier, 1996; Lamaison ir kt., 1990]. Ji kaupia ir flavonolinius glikozidus, [Harbourne ir kt., 2009] iš kurių daugiausia yra spireozido, net iki 3-4 % [Maksimovic ir kt., 2007]. Vaistinėje žaliavoje taip pat yra hiperozido, rutino, avikuliarino, miristicino, flavonoidų aglikonų – kempferolio ir kvercetino bei apigenino, liuteolino [Bisset, 1994]. Žydinčiose

augaluose aptinkama 1-3% flavonoidų, o pačiuose žiedynuose virš 6% [Poukens-Renwart ir kt., 1992; Thieme, 1966].

Pelkinėse vingiorykštės žieduose taip pat gausu salicilo, protokatechino, galo, kofeino rūgščių, bei kitų organinių rūgščių [Duke, 1989]. Žolėje yra apie 0,2% eterinio aliejaus, kurio pagrindiniai komponentai yra salicilaldehidas, sudarantis 75%, ir metilsalicilas [Dagilytė, 2001; Newall, 1996]. Virškinamajame trakte salicilas, salicilaldehidas ir metilsalicilas yra oksiduojami į salicilo rūgštį, kuri gimininga aspirinui.

Dar 1980 m. Barnaulov su bendraautoriais eksperimentuose žiurkėms, perišant žarnos stormenį imobilizacijos metu nustatė priešopinį vingiorykštės nuoviro poveikį, taip pat stebėjo mažesnius pažeidimus, sukėlus opaligę acetilsaliciline rūštimi bei 70% etanolio injekcijomis į pogleivį [Barnaulov, Denisenko, 1980]. Literatūroje tai vienintelė publikacija apie pelkinės vingiorykštės poveikį į skrandžio audinį.

In vivo ir *in vitro* tyrimuose buvo nustatyta, kad pelkinės vingiorykštės žiedų bei sėklų ištrauka pasižymi stipriu antikoaguliaciniu aktyvumu, todėl stabdo trombocitų agregaciją ir saugo nuo širdies infarkto, bei insulto [Liapina, Kovalchuk, 1993; Kudriashov ir kt., 1990]. Pelkinės vingiorykštės žiedų antikoaguliacines ir fibrinolizines savybes lemia į hepariną panašios medžiagos, kurios susijungdamos su baltymais sudaro kompleksus. Pastarųjų poveikį neutralizuoja heparino antagonistas protaminas [Kudriashov ir kt., 1990; 1991].

Vingiorykštės žieduose gausu taninų. Taninų biologinį poveikį lemia jų gebėjimas sudaryti kompleksus su baltymais [Heinrich, 2004]. Jie yra fermentų inhibitoriai, slopinantys proteinkinazę. Taninai taip pat stabdo kai kurių kancerogenų mutageniškumą, stimuliuoja organizmo imuninius procesus, slopina lipidų peroksidaciją ir sujungia laisvuosius radikalus. Jie saugo išorinį odos ir gleivinės sluoksnį nuo išdžiūvimo, taip pat sutraukia smulkiausias kraujagysles, palaiko endotelio vientisumą, slopindami elastazės aktyvumą [Lamaison ir kt., 1990].

Taninai sulaiko skysčius ir saugo organizmą nuo išorinio poveikio, taip pat skatina sužalotų audinių regeneraciją. Taninų molekulės pasižymi antibakterinėmis ir antigrybelinėmis savybėmis. Eilė autorių nustatė, kad pelkinės vingiorykštės ekstraktas slopina ešerichijų, mikrokokų, pseudomonų augimą [Fant ir kt., 1999; Rauha ir kt., 2000]. Pelkinės vingiorykštės naudojimą virškinimo trakto sutrikimams [Newall, 1996], kraujagyslių patologijai gydyti [Halkes, 1997] lemia taninai, pasižymintys sutraukiančiomis savybėmis.

Pelkinėje vingiorykštėje esantys flavanoidai – kita labai svarbi junginių grupė, kuri lemia žolės ir iš jos gaminamų preparatų farmakoterapinį poveikį. Biologiškai aktyvūs flavanoidai yra beveik netoksiški. Flavanoidai, turintys fenolių hidroksilų, geba lengvai oksiduotis, tuo padėdami redukuoti kitas medžiagas ar stabdyti jų oksidaciją. Modelinėje sistemoje su stabiliu difenilpikrilo hidroksilo (DPPH) radikalų, nustatytas stiprus tirpių metanolyje ir vandenyje pelkinės vingiorykštės frakcijų antioksidacinis veikimas [Calliste ir kt., 2001; Sroka ir kt., 2001]. Kitame tyrime fenolinis pelkinės vingiorykštės ekstraktas taip pat pasižymėjo stipriomis antioksidacinėmis savybėmis [Kähkönen ir kt., 1999]. *In vitro* tyrimuose su stabiliu DPPH patvirtintas ir metanolinio vingiorykštės ekstrakto antioksidacinis veikimas, o Fe^{2+} /askorbato sistemoje stipriai slopinama lipidinė peroksidacija lizosomose. Išgryninus veikliausias medžiagas, stipriausiu laisvuosius radikalus surišančiu veikimu pasižymėjo spiraeozidai [Maksimovic ir kt., 2007], kurių didžiausia koncentracija randama žieduose [Lamaison, 1992]. Antioksidacinį ir hepatoprotekcinį vingiorykštės tinktūros veikimą nustatė Shilova su bendraautoriais [2006]. 70% etanolinis vingiorykštės ekstraktas stipriai slopino toksinį anglies tetrachlorido poveikį, pagal kai kuriuos požymius lenkdamas net vaistinį Karsil preparatą [Shilova ir kt., 2006]. Be to, flavanoidai kitaip nei kiti reduktoriai, net ir esant labai mažiems jų kiekiams, smarkiai slopina oksidacijos procesą, tuo tarpu kai kitiems reduktoriams jų kiekis mišinyje turi būti toks pat kaip ir redukuojamos medžiagos [Dagilytė, 2001]. Autorių duomenimis, pelkinės vingiorykštės antioksidacinės savybės tikėtų laisvųjų

radikalų sukeltamų ligų gydymui ar profilaktikai [Ryzhikov, Ryzhikova, 2006].

Pelkinės vingiorykštės vaistinėje žaliavoje yra daug askorbo rūgšties. *In vitro* tyrimuose nustatyta, kad flavonoidai redukuoja dehidroaskorbo rūgštį. Dėl flavonoidų redukcinių savybių išsaugoma nepakitusi askorbo rūgštis.

Priklausomai nuo struktūros, flavonoidai šiek tiek mažina kapiliarų trapumą, normalizuoja kraujagyslių pralaidumą. Šias savybes lemia hialuronato liazės inhibicija, kuri atitolina hialurono rūgšties skilimą. Flavonoidai sujungia laisvuosius radikalus ir stabdo lipidų autooksidaciją, slopina ciklinio adenozinmonofosfato (cAMF) fosfodiesterazę, kuri veikia antiagregacinius procesus [Dagilytė, 2001].

Churin su bendraautorais [2008] *in vitro* tyrimuose nustatė kad vingiorykštės tinktūra pasižymi priešuždegiminiu veikimu, slopina interleukino IL-2 išsiskyrimą blužnies ląstelėse ir prouždegiminių citokinų išsiskyrimą lėto veikimo alerginių reakcijų metu. Vingiorykštės flavonoidai pasižymi priešuždegiminiu veikimu: mažina angiogenezę, leukocitų inhibiciją, uždegiminių ląstelių adheziją prie endotelio, komplemento aktyvaciją, neutrofilų degranuliaciją, tokiu būdu sumažindami arachidono rūgšties išsiskyrimą iš neutrofilų ir kitų imuninių ląstelių, taip pat slopina mieloperoksidazės, ciklooksigenazės aktyvumą. Salicilas, esantis pelkinėje vingiorykštėje, pasižymi švelniu priešuždegiminiu poveikiu, todėl naudojamas temperatūrai mažinti peršalimo metu ar kosint [Newall, 1996]. Dėl žolėje esančių biologiškai aktyvių medžiagų, pelkinės vingiorykštės preparatus rekomenduojama naudoti kaip priešreumatinę, uždegimą slopinančią priemonę sergant sąnarių, raumenų ligomis, tarp jų ir artritu [Zeylstra ir kt., 1998].

Flavonoidai pasižymi toksiniu poveikiu vėžinėms ląstelėms, kai tuo tarpu normalioms ląstelėms jie yra netoksiški arba mažiau toksiški. Etanolinės kai kurių sudedamųjų dalių ištraukos mažose koncentracijose (10-50 µg/ml) pasižymi stipriu citotoksiniu poveikiu žmogaus limfoblastomos kultūros ląstelėms, kas palyginama ciklofosfamido ar fluoracilo poveikiui [Spiridonov ir kt., 2005]. Kiti autoriai pastebėjo priešvėžinį vingiorykštės žiedų poveikį

skvamozinių ląstelių karcinomai, sukeltai 7,12- dimetil-benz-antraceno dariniais, taip pat gavo teigiamą atsaką 67% gydytų pacienčių, sergančių gimdos kaklelio displazija [Peresun'ko ir kt., 1993]. Be priešūždegiminio poveikio, pelkinės vingiorykštės ekstraktas duodamas įvairiomis dozėmis (10-500 mg/kg), stimuliuoja eksperimentinių pelių humoralinį imunitetą [Churin ir kt., 2008].

Flavonoidai slopina citozolinę ir membraninę tirozinkinazę, kurios kartu su membranos baltymais dalyvauja daugelyje reakcijų tokių, kaip fermentų aktyvinimas, transportas per membraną, energijos perdavimas, sintezuojamam adenzintrifosfatui (ATF). Taigi šių baltymų inhibicijos rezultatas – nekontroliuojamas ląstelių augimo ir proliferacijos slopinimas [Nijveldt ir kt., 2001].

Tačiau reikia pažymėti, kad yra ir išimčių. Žmonės, kurie yra jautrūs aspirinui, turėtų vengti pelkinės vingiorykštės preparatų. Taip pat šio augalo preparatų nepatartina duoti mažiems vaikams, kadangi jie gali sukelti Rejo sindromą [Zeylstra, 1998]. Nustatytas ir nesteroidinių vaistų nuo uždegimo, aspirino, valfarino [Heck ir kt., 2000] ir pelkinės vingiorykštės sinergistinis veikimas, galintis sukelti kraujavimo pavojų iš virškinimo trakto. Jos veikimas su acetaminofenu gali toksiškai paveikti kepenų funkciją (sinergistinis salicilatų ir acetaminofeno poveikis) [Abebe, 2002]. Reikia pažymėti, kad pelkinė vingiorykštė yra susijusi su aspirinu, kadangi pastarojo atradimo istorija siejama su augalu, priklausančiu tai pačiai *Rosaceae* šeimai. Tai lanksva (*Spiraea*), kuri malšina pykinimą ir vartojama skrandžio sutrikimams gydyti. 1830 m iš šio augalo pirmą kartą buvo išskirti salicilatai – medžiagos, turinčios priešūždegiminį veikimą. Po 6 metų, farmacinė kompanija „Bayer“ šių medžiagų pagrindu sukūrė acetilsalicilą, kurį pavadino aspirinu.

Salicilatai panašiai kaip aspirinas pasižymi priešūždegiminiu poveikiu, todėl ir pelkinė vingiorykštė mažina temperatūrą, malšina sąnarių skausmą sergant reumatu ar artritu, tačiau nepasižymi šalutiniu poveikiu, būdingu aspirinui, t.y. nesukelia skrandžio opos ir kraujavimo iš virškinamojo trakto. Ji vartojama skrandžio sutrikimams gydyti ir yra viena iš geriausiai virškinimo

sistemą veikiančių augalų. Vingiorykštė apsaugo virškinamojo trakto gleivinę, mažina padidėjusį rūgštingumą, malšina pykinimą, o vaikų ligų praktikoje vartojama viduriavimui gydyti.

Todėl, mes savo tyrime ir panaudojome pelkinės vingiorykštės, priklausančios minėtai *Rosaceae* šeimai, tinkūrą, tikėdamiesi gauti teigiamą poveikį gastroduodeninės srities gleivinei, dėl augale esančių medžiagų, pasižyminčių antioksidacinėmis savybėmis, kurios, patologijos metu, galėtų įtakoti jos oksidacinę sistemą ir, tuo pačiu, išvengti salicilatams būdingų pašalinių poveikių, lemiančių opų atsiradimą.

3. DARBO APIMTIS IR TYRIMO METODAI

3.1. Paprastojo kaštono ir pelkinės vingiorykštės tinktūrų paruošimas ir standartizavimas

Tyrimui panaudojome mūsų paruoštas pelkinės vingiorykštės žiedų bei paprastojo kaštono žiedų spiritines tinktūras (dr. A. Keturkienės darbas). Vingiorykštės žiedų tinktūros preparatas buvo registruotas Lietuvoje (Keturkienė A, patentas LT 4880B, 2002). Komponentų skaičius tinktūrose nustatytas dujiniu chromatografu su liepsnos jonizacijos detektoriumi. Komponentai identifikuoti masių spektrofotometru atlikus paiešką Wiley 275.1 bibliotekoje.

Pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūra standartizuota atsižvelgiant į salicilo aldehido kiekį, kuris tirtas skysčių chromatografu (HPLC) ir flavonoidų kiekį. Nustatėme, kad pagamintoje kaštono žiedų tinktūroje nėra escino, ką patvirtino tyrimas skysčių chromatografu. Paprastojo kaštono žiedų tinktūra standartizuota pagal flavonoidų kiekį.

Salicilo aldehido kiekis vingiorykštės žiedų tinktūroje sudarė 0,15 µl/ml (25°), flavonoidų - 1,39 g/100 ml. Kaštono žiedų flavonoidų kiekis sudarė 1,88 g/100ml.

Atlikus toksiškumo tyrimus žiurkėms (metodika pagal [Majus, 1995]) su pelkinės vingiorykštės ir paprastojo kaštono žiedų tinktūromis skiriant maksimalias jų dozes (Pelkinės vingiorykštės 1,57 g/kg, paprastojo kaštono 1,55 g/kg) ir pakartotines 5, 10, 20 mg/kg dozes 21 tyrimų dieną toksinio tinktūrų poveikio nerasta [Keturkienė ir kt., 2000; Keturkienė ir kt., 2002].

3.2. Eksperimentiniai tyrimai su gyvūnais

3.2.1. Eksperimentiniai gyvūnai

Darbui panaudota 95 Wistar populiacijos 8-10 sav. amžiaus lytiškai subrendusių žiurkių patinų (kūno masė 200-240 g), gautų iš VU Imunologijos instituto veislyno (Vilnius, Lietuva). Gyvūnai buvo laikomi standartinėmis

sąlygomis plastikiniuose, o sukeliant eksperimentinę opaligę žiurkėms skirtuose narveliuose su skylėtu dugnu siekiant užtikrinti gyvūnų skrandžio turinio švarai nuo fekalijų. Aplinkos temperatūra $18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, santykinė drėgmė 50-70% ir šviesos-tamsos režimas 12:12 val. Gyvūnai buvo šeriami kombinuotu pašaru, atitinkančiu laboratorinių gyvūnų fiziologines normas ir pagamintu laikantis ES reikalavimų pašarams (AB „Kėdainių grūdai“). Eksperimento metu žiurkės laisvai pasiekdavo maistą ir geriamą vandenį. Aklimatizacijos periodas prieš pradėdant bandymą – 3 dienos. Tyrimams atlikti gautas Lietuvos Laboratorinių gyvūnų naudojimo etikos komisijos prie Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos leidimas.

3.2.2. Eksperimentinės opaligės sukėlimas ir gydymas augalinėmis tinktūromis

Įsisavintas modifikuotas skrandžio gleivinės pakenkimo indometacinu eksperimentinis modelis Wistar žiurkėms [Vasiliauskas ir kt., 2002]. Remiantis 1 lentelėje nurodytais autoriais, išbandėme eksperimentinės opaligės sukėlimą 9 žiurkėms, taikant vienkartinės indometacino dozes: 25 mg/kg, 30 mg/kg, 60 mg/kg *per os*. Ryškesni pakitimai (pavienės erozijos) gauti, naudojant 60 mg/kg indometacino dozę. Vėliau empiriškai keistos eksperimento sąlygos, taikant 3 žiurkėms dvi vienodas dozes, (t.y. dvi dienas po 30 mg/kg *per os*). Gyvūnai dekapituoti po 24 val. Rasti pakitimai apsiribojo eritemomis ir erozijomis. Taikant tris dozes (3 žiurkės), skrandžio antralinės dalies gleivinėje stebėtos daugybinės opos.

Tolimesniuose mūsų bandymuose, sukeliant eksperimentinę opaligę, indometacino dozės buvo skirtos pagal sekančią schemą:

pirma diena - indometacino dozė 30 mg/kg *per os*, o maistas ir gėrimas *ad libitum*;

antra diena – 30 mg/kg indometacino ir maitinimas nuo pusės dienos nutraukiamas, gėrimas *ad libitum*;

trečia diena – 60 mg/kg indometacino, o maistas visai nutraukiamas, išskyrus gėrimą;

ketvirta diena – dekapitacija, praėjus 24 val. po paskutinės indometacino dozės.

1 lentelė. Eksperimentinės opaligės sukėlimo indometacinu metodikų palyginimas

Eil. Nr.	Autorius, metai	Indometacino dozė	Badavimo laikas	Laikas iki dekapitacijos
1.	Takeuchi ir kt., 1991	25 mg/kg vienkartinė dozė <i>per os</i>	18 val.	0,5-4 val.
2.	Kataoka ir kt., 2000	5-10 mg/kg dozė po oda 4 dienas	4 dienas maitinta po to 12 val. badavimas	5 val. po vaisto suleidimo
3.	Laudanno ir kt., 2000	60 mg/kg vienkartinė dozė <i>per os</i> , po oda	36 val. po to 1 val. maitinimas, po 30min vaisto dozė	24 val.

Indometacino tirpalas buvo ruošiamas *ex tempore* naudojant komercinį indometaciną (Indometacin, Balkanpharma, serijos Nr. 594801) tabletėmis, kuriose yra 25 mg indometacino. Sutrintos tabletės maišomos 2% Tween 80 tirpale. Reikalinga indometacino dozė paskaičiuota atsižvelgiant į kiekvieno gyvūno kūno masę. Vienkartinė vaisto dozė Tween 80 tirpale neviršijo 1,5 ml skysčio duodamo *per os*.

Bandyme, atliktame su 40 žiurkių, įvertinome oksidacinės sistemos pokyčius *in vivo* kraujo serume ir *in vitro* skrandžio gleivinės homogenatuose sukėlus eksperimentinę opaligę ir profilaktiškai taikant augalines tinktūras. Visi tiriamieji gyvūnai laikyti specialiuose narvuose su skylėtu dugnu po penkis kiekviena, siekiant užtikrinti gyvūnų skrandžio turinio švarą nuo fekalijų.

Vingiorykštės ir kaštonų žiedų tinktūrų profilaktinis taikymas bandomosioms žiurkių grupėms (po 10 gyvūnų kiekvienoje) pradėtas 60 min. prieš opaligės sukėlimą, sugirdant joms kasdien *per os* po 0,75 ml/100g kūno masės. Duomenys palyginti su kontroline, negavusia tinktūrų gyvūnų grupe,

kuriems sukelta opaligė, ir sveikų gyvūnų grupė. Šių grupių gyvūnai kasdien gaudavo *per os* tą patį kiekį fiziologinio tirpalo. Bandymo trukmė 4 dienos. Penktą tyrimų dieną atliekama gyvūnų dekapitacija lengvai narkotizavus juos Apaurinu (KRKA).

Paimamas kraujas tolimesniems oksidacinės sistemos rodiklių nustatymams kraujo serume. Pašalinti gyvūnų skrandžiai, perplaunami šaltu fiziologiniu tirpalu, disekuojami per didžiąją skrandžio kreivę. Pavyzdžiai išskleidžiami ir fotografuojami. Gautoje skaitmeninėje nuotraukoje opinio pažeidimo dydis matuojamas ir apskaičiuojamas naudojantis kompiuterine planimetrijos programa. Iš skrandžio liaukinės dalies paimami mėginiai histologiniams tyrimams, o likusi dalis užšaldoma prie -20°C tolimesniems antioksidacinės sistemos tyrimams atlikti.

3.2.3. Adjuvantinio artrito ir eksperimentinės opaligės sukėlimas ir gydymas augalinėmis tinktūromis

Tyrimė, panaudojant eksperimentinį reumatoidinio artrito modelį - adjuvantinį artritą (AA), sukeltą 40 gyvūnų, įvertinome oksidacinės sistemos pokyčius *in vivo* kraujo serume ir *in vitro* skrandžio gleivinės audinyje, sukėlus jiems eksperimentinę opaligę ir profilaktiškai taikant augalines tinktūras.

AA sukeltas suleidžiant į kairės užpakalinės kojos padą 0,1 ml pilnojo Froindo adjuvanto (Calbiochem, JAV). Eksperimentinė opaligė gyvūnams su išsivysčiusiu AA buvo sukeliama nuo 9 tyrimų dienos, o augalinių tinktūrų taikymas pradėtas 60 min. prieš opaligės sukėlimą, suleidžiant vingiorykštės žiedų tinktūrą kasdien *per os* po 0,75 ml/100g kūno masės. Duomenys palyginti su gyvūnų, kuriems sukeltas AA ir opaligė grupė ir sveikų žiurkių grupė. Pastarosios grupės kasdien gaudavo *per os* tą patį kiekį fiziologinio tirpalo. 15-tą tyrimų dieną atliekama gyvūnų dekapitacija ir medžiaga, kaip aprašyta ankstesniame skyriuje, paimama tolimesniems tyrimams.

3.2.4. Kraujo ir skrandžio gleivinės oksidacinių ir antioksidacinių rodiklių tyrimas

3.2.4.1. Tiriamųjų mėginių paruošimo metodai

Kraujo serumai gaunami naudojant įprastą klinikinėje praktikoje metodiką. Paimtas kraujas laikomas kambario temperatūroje 4 val. kol susiformuoja vientisas krešulys, tada centrifūguojamas 3000 aps/min greičiu 15 min. Gautas kraujo serumas nusiurbiamas ir naudojamas tyrimams.

Skrandžio gleivinės audinio 10% homogenatas ruošiamas *ex tempore* standartiniu būdu: 1 dalis audinio masės ir 9 dalys buferinio tirpalo homogenizuojama naudojant stiklinį homogenizatorių. Gautas homogenizatas centrifūguojamas 20 min šaldomoje centrifūgoje (4°C) prie 13000 aps/min. Gautas supernatantas naudojamas pro/antioksidacinės sistemos rodiklių nustatymui.

3.2.4.2. Maloninio dialdehido (MDA) kiekio kraujyje ir skrandžio gleivinės audinyje nustatymas

Prooksidantinio riebiųjų rūgščių peroksidacijos produkto maloninio dialdehido (MDA) kiekis nustatomas pagal Gavrilovo ir bendraautorių [1987] aprašytą metodiką. Reakcijoje naudojama 2% ortofosforo rūgštis (H_3PO_4), (pH =1,3-1,6), 0,8% tiobarbitūrinė rūgštis, n-butanolis. Reakcijos mėginio turinį sudaro 3 ml 2% ortofosforo rūgšties, 1 ml 0,8% tiobarbitūrinės rūgšties, 0,2 ml gyvūnų kraujo serumo. Mėginys gerai supurtomas ir verdančio vandens vonioje kaitinamas 45 min. Atšaldžius kambario temperatūroje, atliekama ekstrakcija, naudojant 5 ml n-butanolio. Optinis tankis D matuojamas spektrofotometru Marcell Pro 300 (Lenkija) 535 nm ir 580 nm bangų ilgiuose. Maloninio dialdehido koncentracija apskaičiuota pagal formulę:

$$C=0.81+106\Delta D,$$

kur ΔD - skirtumas tarp mėginio optinio tankio esant 535 nm bangos ilgiui ir optinio tankio, esant 580 nm bangos ilgiui ($D_{535}-D_{580}$).

MDA kiekis skrandžio gleivinės audinyje (audinio homogenate) nustatomas pagal tą pačią metodiką. 10% audinio homogenatas pagamintas naudojant fiziologinį tirpalą.

3.2.4.3. Antioksidacinių fermentų aktyvumo nustatymas kraujo serume ir skrandžio gleivinės audinyje.

3.2.4.3.1. Superoksido dismutazės (SOD) aktyvumo nustatymas.

Antioksidantinės sistemos fermentas SOD nustatytas remiantis Csovari su bendraautoriais [1991] metodu. Reakcijoje naudojamas natrio fosfato (0,15 M, pH=7,8) buferis, TRIS-EDTA (pH=8,0) buferis, mėlynojo nitrotetrazolio chloridas (NTB), N-metylfenazono metylsulfatas, NADH (β -nikotinamido adenino dinukleotido redukuotos dinatrio druskos hidratas). Reakcijai reikalingas pirmas inkubacinis mišinys (IM1), susidedantis iš 1,5 mg EDTA, 12,5 mg NTB, 23 mg N-metylfenazono metylsulfato, ištirpintų 25 ml natrio fosfato buferyje. Antras inkubacinis mišinys (IM2) susideda iš 7 mg NADH, ištirpinto 9,2 ml TRIS-EDTA buferyje. SOD nustatymui reikalingas šis serumo ar homogenato paruošimo būdas, pašalinant nereikalingas baltymų frakcijas dehidratacijos ir dalinės denatūracijos pagalba: 0,2 ml kraujo serumo ar audinio homogenato praskiedžiama 0,8 ml bidestiliuoto vandens. Supurčius, į mėginį pridedama 0,3 ml gryno etanolio, 0,15 ml chloroformo tirpalo ir 300 mg kristalinės kalio dihidrofosfatinės druskos baltymų denatūracijos procesui pagreitinti. Permaišius stikline lazdele turinys 15 min. centrifūguojamas prie 5000 aps/min. Susidariusi turinio viršutinė dalis, kuri ir yra tiriamoji medžiaga tolesnėje reakcijoje nusiurbama. Baigiant reakciją naudojama kvarcinė kiuvetė įstatyta spektrofotometre su 540 nm ilgio banga, kurioje prie 2 ml IM1 pridedama 50 μ l tiriamosios medžiagos. Reakcija inicijuojama 100 μ l IM2 ir reakcijos turinio optinis tankis nustatomas iniciacijos momentu ir po 2 min.

Kontrolės mėginį sudaro IM1, IM2 ir 50 µl natrio fosfato buferis. SOD aktyvumas skaičiuojamas pagal formulę:

$(\Delta E_{\text{kontrolės}}/\Delta E_{\text{tiriamoji}} - 1) \cdot 130$, kur

$\Delta E_{\text{kontrolės}}$ – kontrolės mėginio optinio tankio skirtumas $E_{\text{po 2 min}} - E_{0 \text{ min}}$;

$\Delta E_{\text{tiriamoji}}$ – tiriamojo mėginio optinio tankio skirtumas $E_{\text{po 2 min}} - E_{0 \text{ min}}$.

SOD aktyvumas išreikštas santykiniais vienetais 1 mg baltymo kiekyje. [Csoviri ir kt., 1991]

SOD aktyvumas skrandžio gleivinės audinio homogenate nustatytas pagal tą pačią metodiką: naudotas 10% homogenato tirpalas, skystajai daliai panaudotas aukščiau minėtas natrio fosfato buferis.

3.2.4.3.2. Katalazės (KAT) aktyvumo nustatymas

KAT aktyvumas nustatytas remiantis Koroliuk su bendraautorių [1988] metodu. Reakcijoje naudoti 0,03% vandenilio peroksido (H_2O_2) ir 4% amonio molibdato tirpalai. Imama 0,1 ml tiriamo serumo ar audinio homogenato supernatanto ir 2 ml 0,03% H_2O_2 . Po 10 min. mėginys skiedžiamas 1 ml 4% amonio molibdato tirpalu. Gauto mėginio optinis tankis nustatomas spektrofotometru 410 nm bangos ilgyje. Tiriamojo mėginio optinis tankis lyginamas su reagentų ir vandens kontrole (vietoj 0,03% H_2O_2 naudojamas bidestiliuotas vanduo). KAT aktyvumas apskaičiuojamas pagal formulę:

$(E_{\text{reagentų}} - (E_{\text{tiriamųjų}} - E_{\text{H}_2\text{O}})) \cdot 3000/22,2$

$E_{\text{reagentų}}$ – reagentų optinis tankis (reakcijos kontrolė),

$E_{\text{tiriamųjų}}$ – tiriamosios medžiagos optinis tankis,

$E_{\text{H}_2\text{O}}$ – tiriamosios medžiagos optinis tankis, kur 0,03% H_2O_2 pakeistas vandeniu (mėginio kontrolė).

KAT aktyvumas išreiškiamas nmol/L/min [Koroliuk ir kt., 1988].

3.2.4.3.3. Bendro antioksidantinio aktyvumo (AOA) nustatymas

Mėginių bendras antioksidantinis aktyvumas nustatytas remiantis Galaktionovos su bendraautoriais metodika [1998]. Reakcijai reikalingi: 1% Tween 80[®], 1 mM vandeninis geležies (II) sulfatas, 10 mM vandeninė askorbo rūgštis, 40% trichloracto ir 0,25% vandeninė tiobarbitūrinė rūgštis. Į 200 ml tūrio stiklinius indus supylus 2 ml 1% Tween 80[®] tirpalo, 0,2 ml 1 mM vandeninio geležies (II) sulfato, 0,2 ml 10 mM vandeninės askorbo rūgšties ir tiriamosios medžiagos, mėginys inkubuojamas 48 val. 40°C temperatūroje. Reakcijos kontrolei biologinė medžiaga pakeičiama vandeniu. Vėliau 2 ml mišinio skiedžiami 1 ml 40% trichloracto rūgštimi. Po 1 val. mėginiai centrifuguojami 15 min. prie 8000 aps/min. Vėliau 1 ml supernatanto skiedžiamas 2 ml 0,25% vandeniniu tiobarbitūrinės rūgšties tirpalu ir virinamas 15 min. Atvėsusio mišinio optinis tankis matuojamas spektrofotometru 532 nm bangos ilgyje. Bendras AOA apskaičiuojamas pagal formulę:

$$(E_{\text{kontrolės}} - E_{\text{tiriamąjo}}) / E_{\text{kontrolės}} \cdot 100,$$

$E_{\text{kontrolės}}$ – kontrolės mišinio optinis tankis,

$E_{\text{tiriamąjo}}$ – tiriamosios medžiagos mėginio optinis tankis.

Bendras AOA išreikštas slopinimo procentais [Galaktionova ir kt., 1998].

3.2.4.3.4. Baltymo kiekio nustatymas tiriamajoje medžiagoje

Baltymo kiekis tiriamajoje medžiagoje nustatytas naudojantis standartiniu rinkiniu B 040. (Gamintojas AQUA-MEDICA, Lenkija)

3.2.5. Mėginių inkubacija paprastojo kaštono ir pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūromis *in vitro* tyrimuose

Savo darbe, nustatant paprastojo kaštono ir pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūrų įtaką skrandžio gleivinės audinio oksidacinei sistemai, buvo atlikti *in vitro* tyrimai inkubuojant gleivinės audinio homogenatą minėtomis tinktūromis. Mėginiai 1 val. inkubuoti 37°C temperatūroje. Tiriamosios medžiagos inkubacija nustatant visus minėtus rodiklius, atlikta vienodomis

sąlygomis. Buvo imama 0,2 ml homogenato, 0,1 ml paprastojo kaštono ar pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūros. Kadangi augalų tinktūrose nustatyta 40° etanolio koncentracija, palygimui, kaip kontrolė, naudota mėginių inkubacija 0,1 ml 40° etanolio tirpalu. Tiriamojo rodiklio nustatymui imtas inkubato kiekis pagal naudotą metodiką, o rodiklių reikšmės apskaičiuotos 1 mg baltymo kiekiui.

3.2.6. Histologinis skrandžio gleivinės tyrimas

Makroskopiškai įvertinus skrandžio gleivinės opinius pokyčius, atliktas jos histologinis tyrimas. Parafininiai 5 mikronų storio pjūviai dažyti hematoksilino ir eozino mišiniu bendram morfologiniam vaizdui nustatyti ir uždegiminiams procesams gleivinėje įvertinti. Pokyčiai gleivinėje vertinti naudojant 4 balų sistemą (0-3), kur 0 - nėra pokyčių, 1 balas – silpna uždegiminė reakcija (polimorfonuklearai išsidėstę tarp gleivinės liaukučių), 2 balai – vidutiniško laipsnio uždegiminė reakcija (polimorfonuklearai išsidėstę liaukos epitelyje), 3 balai – stipri uždegiminė reakcija (polimorfonuklearai išsidėstę liaukos spindyje).

3.3. Klinikiniai tyrimai

3.3.1. Pacientų atrankos kriterijai

Tirti pacientai, kurie kreipėsi į Centro poliklinikos endoskopinių tyrimų kabinetą su siuntimu iš bendrosios praktikos gydytojų ar terapeutų atlikti esofagogastroduodenofibroskopijos tyrimą, įtarus gastroduodeninės zonos opaligę. Remiantis kruopščia klinikinių duomenų analize, atlikus ligonių anketavimą pagal būdingus klinikinius skundus, ir esofagogastroduodenofibroskopijos pagalba nustatyta opos diagnozė. Atliekant endoskopiją (Pentax EG-2470 K endoskopas) pacientams paimtos biopsijos iš dvylikapirštės žarnos, skrandžio *antrum* dalies ir skrandžio kūno dalies pagal

nustatytą Sidnėjaus schemą, kurios iširtos histologiškai, nustatant *H. pylori* infektuotumą.

Tyrimai atlikti gavus Lietuvos Bioetikos komiteto leidimą (Nr. 22, 2007-07-09).

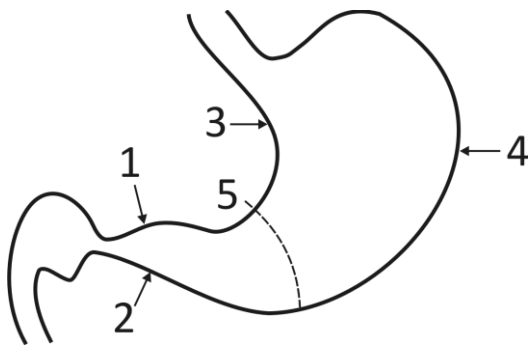
Ligonių įtraukimo į tyrimą kriterijai:

1. Ligoniai, turintys virškinamojo trakto sutrikimų, kuriems endoskopiškai diagnozuota gastroduodeninės gleivinės opa.
2. Pacientai negydyti gastroprotekciniais vaistais tris mėnesius.
3. Tris mėnesius nevartoję hormoninių, citostatinių vaistų, nesteroidinių vaistų nuo uždegimo; nerūkantys.
4. Nesergantys kitomis ligomis.

Kontrolinių asmenų grupę sudarė pacientai, kuriems endoskopuojant nerasta vizualios patologijos, arba besiskundžiantys tik dispepsija.

3.3.2. Biopsinės medžiagos iš skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės paėmimo ir vertinimo metodika

Atliekant esofagogastroduodenofibroskopiją, buvo imamos biopsijos iš 1 pav. pažymėtų vietų pagal tarptautinės Sydney sistemos rekomendacijas [Dixon ir kt., 1996]. Viena biopsija imta iš mažosios kreivės urvinės dalies, 2-3 cm nuo prievartčio angos, antra – iš didžiosios kreivės urvinės dalies, 2-3 cm nuo prievartčio angos, trečia – iš skrandžio kūno mažosios kreivės, apie 4 cm aukščiau kampo srities, ketvirta – iš kūno didžiosios kreivės vidurinės dalies, apie 8 cm nuo įskrandžio. Nustačius opą, biopsijos paimitos iš opos krašto ir 1 cm atstumu nuo opos krašto.



1 pav. Skrandžio gleivinės biopsijų paėmimo vietos

Dvylikapirštėje žarnoje radus opą, biopsijos paimtos iš opos krašto ir 1cm nuo opos krašto. Kiekviena biopsija, įdėta į atskirą indelį siūsta histologiniam ir biocheminiam tyrimui. Biopsijos iš skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės, paimtos histologiniam tyrimui ir *H. pylori* infekuotumui nustatyti, fiksuotos spirito ir formalino (1:9) tirpale ir užlietos parafinu.

Parafininiai 5 mikronų storio pjūviai dažyti hematoksilino ir eozino mišiniu bendram morfologiniam vaizdui nustatyti ir uždegiminiams procesams gleivinėje įvertinti.

Bakterijų dažymo metodas atliktas pagal Alfejevą, siekiant išryškinti *H. pylori*. Metodo principas paremtas tuo, kad azūro II-eozino tirpalo sudėtyje esantis piridinas lemia nusidažymo atspalvių įvairovę. Baziniai dažai (azūras II) nudažo branduolius ir bakterijas mėlyna spalva, rūgštiniai dažai (eozinas) – acidofilinius audinio elementus rožine spalva [Laurinavičienė, Smaliukienė, 2007].

Pagal Sidnėjaus gastritų vertinimo rekomendacijas, naudojant papildomai Hiustono vizualinę analogų skalę, įvertinti šie skrandžio gleivinės histologiniai pokyčiai: lėtinis uždegimas (infiltracija mononuklearais), uždegimo aktyvumas (infiltracija granulocitais), skrandžio gleivinės atrofija arba žarninė metaplazija, *H. pylori* tankis. Uždegiminiai pokyčiai ir *H. pylori* infekuotumas įvertinti naudojant 4 balų sistemą (0-3), kur 0 - nėra pokyčių, 3 - ryškūs pokyčiai. *H. pylori* infekuotumo vertinimas - 0 – nerasta bakterijų; 1+ - foveolių paviršius negausiai kolonizuotas *H. pylori*, 2+ – vidutiniškai, 3+ – visas foveolių paviršius gausiai kolonizuotas *H. pylori*.

Mūsų tyrime opaligės eiga buvo vertinta remiantis histologinių tyrimų duomenimis. Ūmi opaligės stadija nustatyta radus histologiniuose pjūviuose gausią polimorfonuklearų infiltraciją, gyjanti opaligės stadija nustatyta radus ryškesnę infiltraciją monomorfonuklearinėmis, plazminėmis ląstelėmis.

3.3.3. Biopsinės medžiagos apdorojimas ir gleivinės homogenatų inkubacija augalinėmis tinktūromis

Biopsijos mėginiai, skirti H₂O₂ kiekio nustatymui, iki apdorojimo, laikyti – 70°C temperatūroje. Juos atšildžius, pagaminti 5% gleivinės audinio homogenatai naudojant Amplex Red rinkinio buferinį tirpalą. Į 1 dalį biopsinės medžiagos masės ir pridėdama 19 dalių buferio. *In vitro* tyrimuose pelkinės vingiorykštės ir paprastojo kaštono tinktūrų dozės inkubacijai su gastroduodeninės zonos gleivinės homogenatu buvo parinktos perskaičius jas pagal standartinę suaugusio žmogaus (70 kg) vartojamą tinktūros dozę, patvirtintą farmakopėjoje. Tai sudarė 2 mikrolitrus (μl) vienam gleivinės homogenato mėginiui. Tyrimų kontrolei 40° etilo alkoholis atitiko alkoholio koncentraciją, esančią vingiorykštės ar kaštono žiedų tinktūrose. Audinio homogenatas 30 min. inkubuotas paprastojo kaštono ir pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūromis. Nucentrifūgavus šaldomoje centrifūgoje prie 9600 g, H₂O₂ kiekis nustatytas homogenato supernatante.

3.3.4. Prooksidacinės ir antioksidacinės sistemos rodiklių tyrimo metodika

Sergančiųjų gastroduodeninės zonos ligomis ir kontrolinių asmenų kraujo serume tirtas galutinis lipidų peroksidacijos produktas maloninis dialdehidas (MDA) [Gavrilov ir kt., 1987]. Antioksidantinis fermentas katalazė (KAT) [Koroliuk ir kt., 1988] ir bendras antioksidantinis aktyvumas (AOA) [Galaktionova ir kt., 1998] pagal aukščiau aprašytas metodikas.

3.3.4.1. Fluorimetrinis vandenilio peroksido kiekio nustatymas gastroduodeninės zonos gleivinės audinyje

Reaktyvių deguonies junginių (ROS) kiekiui pagal tarpinį stabilų metabolitą vandenilio peroksidą (H₂O₂) vertinimui gastroduodeninės zonos gleivinėje panaudotas MOLECULAR PROBES firmos reagentų rinkinys

Amplex Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit (A-22188). Tyrimai atlikti aparatu Fluoroskan Ascent FL (gamintojas Thermo Labsystems).

Amplex Red vandenilio peroksido/peroksidazės vertinimo rinkinys yra jautrus, vieno žingsnio tyrimas, kuriame naudojamas Amplex Red reagentas (10-acetyl-3,7-dihydroxyphenoxazine) H_2O_2 ar peroksidazės nustatymui. Amplex Red reagentas su krienų peroksidaze (HRP) naudojamas H_2O_2 , išsiskiriančio iš biologinių pavyzdžių (tame tarpe ir ląstelių) ar fermentų tarpusavio sąveikos metu, nustatymui. Kai terpėje yra peroksidazė, Amplex Red reagentas reaguoja su H_2O_2 santykiu 1:1 stoichiometriškai, išskirdamas raudonai fluorescuojantį oksidacijos produktą - resorufiną.

Rinkinio komponentai ir reakcijos eiga.

Amplex Red reagentas, dimethylsulfoksidas (DMSO), 0,25 M natrio fosfato (pH=7,4) buferis, krienų peroksidazė, 3% stabilizuotas H_2O_2 tirpalas. Reakcijoje 100 μ l tūrį sudarė: 50 μ l standarto, kontrolės ir tiriamieji pavyzdžiai 96 plokštelės šulinėliuose ir 50 μ l darbinis Amplex Red reagentas. Pastarojo galutinę sudėtį sudarė 50 μ l 10 mM pagrindinio Amplex Red (koncentruoto) tirpalo, 100 μ l 10 U/ml HRP (krienų peroksidazė) tirpalo ir 4,85 ml fosfatinio buferio (viso 5 ml). Reakcijos turinys inkubuotas 30 min. kambario t° , o reakcijos parodymai fiksuoti esant 530 nm sužadavimo bangai ir 590 nm spinduliavimo bangai.

Statistinė duomenų analizė

Duomenų statistinė analizė atlikta panaudojant statistinę programą SPSS 8.0. Reikšmės pateiktos aritmetiniais vidurkiais su standartinių nuokrypių paklaida. Duomenų skirtumų patikimumui priklausomose imtyse įvertinti naudotas Studento t testas, o neparametrinis Mann-Whitney testas skrandžio pažeidimams grupėse palyginti. Duomenys statistiškai reikšmingi, esant $P < 0,05$.

4. DARBO REZULTATAI

4.1. EKSPERIMENTINIAI TYRIMAI SU GYVŪNAIS

4.1.1. Sveikų žiurkių medikamentinė skrandžio opaligė ir jos gydymas vingiorykštės žiedų tinktura

4.1.1.1. Makroskopiniai pokyčiai skrandžio gleivinėje sukėlus žiukėms eksperimentinę opaligę ir gydant ją vingiorykštės žiedų tinktura

2 lentelė rodo pažeistą skrandžio gleivinės plotą, sukėlus žiurkėms eksperimentinę opaligę.

2 lentelė. Žiurkių skrandžio gleivinės pažeidimo plotas sukėlus eksperimentinę opaligę ir gydant ją vingiorykštės žiedų tinktura

Rodmuo	Grupės		
	I Skrandžio opa (n = 9)	II Skrandžio opa + vingiorykštės tinktūra (n = 9)	III Sveikos žiurkės (n = 10)
Bendras skrandžio plotas (mm ²)	649,97±25,58*	+802,18±15,78*	1122,37±86,08
Antrum dalies plotas (mm ²)	172,89±10,82*	+209,21±14,19	321,21±26,54
Antrum pažeistos dalies plotas (mm ²)	33,84±14,49	42,21±8,86	-
Pažeidimo indeksas	5,11	4,96	-

Pastaba: Eksperimentinė opaligė sukeliama indometacinu: pirmą dieną indometacino dozė 30 mg/kg *per os*, o maistas ir gėrimas *ad libitum*; antrą dieną – 30 mg/kg indometacino ir maitinimas nuo pusės dienos nutraukiamas, gėrimas *ad libitum*; trečia diena – 60 mg/kg indometacino, o maistas visai nutraukiamas, išskyrus gėrimą; ketvirta diena – dekapitacija, praėjus 24 val. po paskutinės indometacino dozės. Skrandžio gleivinės pažeidimo plotas apskaičiuotas panaudojant kompiuterinę planimetrijos programą, skrandžio gleivinės vaizdą pavertus skaitmenine nuotrauka. Skrandžio gleivinės pažeidimo indeksas yra opaligės pažeistų zonų ploto ir liaukinės dalies gleivinėsploto santykis. * - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su sveikų gyvūnų grupe. + - Skirtumai statistiškai reikšmingi tarp I ir II grupės gyvūnų.

Kaip matome, po gydymo vingiorykštės žiedų tinktura skrandžio gleivinės pažeidimo indeksas sumažėjo 3%.

4.1.1.2. Žiurkių su eksperimentine opalige histologiniai pokyčiai skrandžio gleivinėje gydant ją pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūra

3 lentelėje ir 2 pav. pateikti pokyčiai žiurkių skrandžio gleivinėje sukėlus indometacinu skrandžio opą ir gydant ją vingiorykštės žiedų tinktūra.

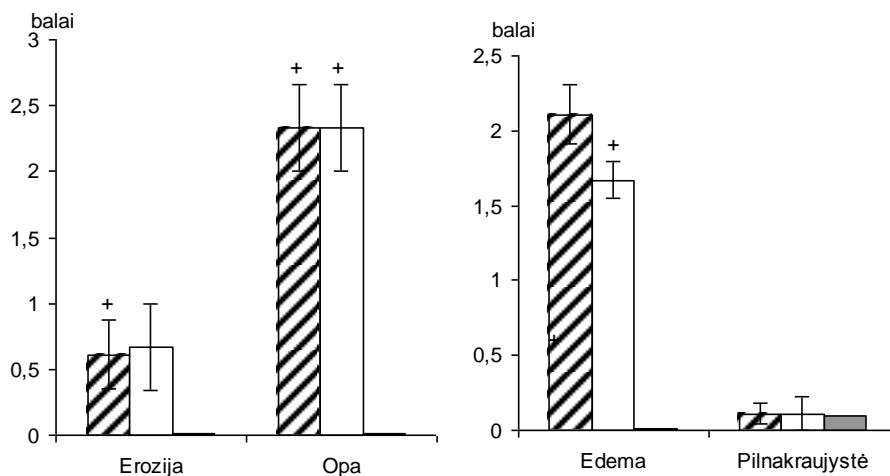
3 lentelė. Histologiniai pokyčiai skrandžio gleivinėje (%) žiurkėms su eksperimentine opalige gydant ją vingiorykštės tinktūra

Pokyčiai		Grupės			
		I Skrandžio opa [n/n (%)]	II Skrandžio opa + vingiorykštės ž. tinktūra [n/n (%)]	III Sveikos žiurkės [n/n (%)]	
Pažeidimas	Erozija	4/9 (44,4%)	3/9 (33,3%)	-	
	Opa	8/9 (88,9%)	8/9 (88,9%)	-	
Edema		9/9 (100%)	9/9 (100%)	-	
Pilnakraujystė		2/9 (22,2%)	1/9 (11,1%)	1/10 (10%)	
Užde- giminė infil- tracija	Limfocitai	9/9 (100%)	9/9 (100%)	2/10 (20%)	
	Makrofagai	8/9 (88,9%)	8/9 (88,9%)	-	
	Leukocitai	Neutrofiliniai	7/9 (77,8%)	1/9 (11,1%)	-
		Eozinofiliniai	9/9 (100%)	9/9 (100%)	1/10 (10%)
Bendra uždegiminė reakcija		9/9 (100%)	9/9 (100%)	-	

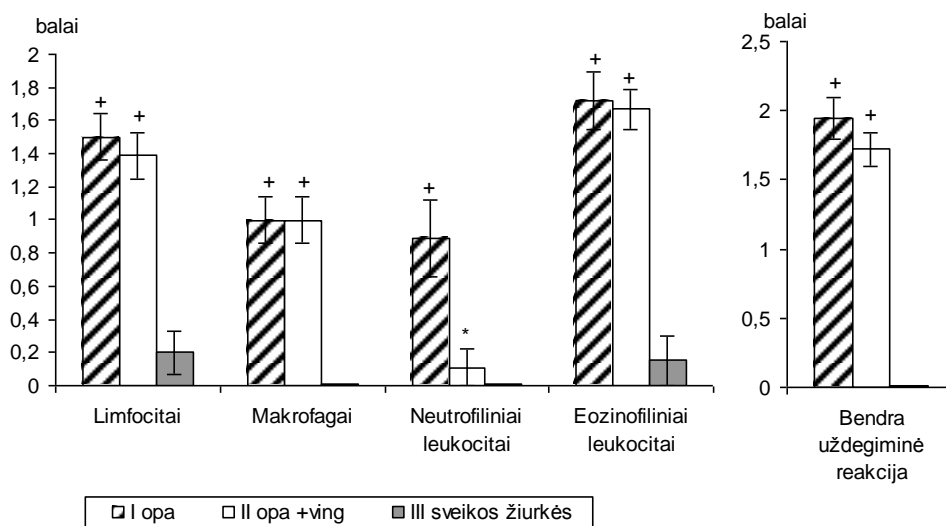
Pastaba: Skrandžio opa I ir II grupėms sukelta indometacinu kaip aprašyta metodikos skyriuje. II grupės gyvūnai gydyti 0,75 ml vingiorykštės tinktūra 100 g kūno masės. n/n – skaičius kairėje – gyvūnai su pokyčiais, skaičius dešinėje – bendras tirtų gyvūnų skaičius. % - gyvūnų su pokyčiais procentinė išraiška.

Kaip matosi iš pateiktų duomenų, abiejose tiriamosiose grupėse statistiškai reikšmingai lyginant su sveikais gyvūnais padidėjo visi tirti rodikliai (2 pav.), išskyrus pilnakraujystę, kurios pėdsakai ar nežymūs pokyčiai rasti tik dviems gyvūnams I grupėje (22,2%) ir po vieną gyvūną gydytoje (11,1%) ir sveikų žiurkių (10%) grupėse.

Pažeidimas



Uždegiminė infiltracija



2 pav. Histologiniai pokyčiai skrandžio gleivinėje žiurkėms su eksperimentine skrandžio opa gydytoms vingiorykštės žiedų tinktūra

Eksperimentinė opaligė I ir II grupėms sukeliama indometacinu: pirmą dieną indometacino dozė 30 mg/kg *per os*, o maistas ir gėrimas *ad libitum*; antrą dieną – 30 mg/kg indometacino ir maitinimas nuo pusės dienos nutraukiamas, gėrimas *ad libitum*; trečia diena – 60 mg/kg indometacino, o maistas visai nutraukiamas, išskyrus gėrimą; ketvirta diena – dekapitacija, praėjus 24 val. po paskutinės indometacino dozės. II grupės gyvūnai pradėti gydyti vingiorykštės tinktūra 60 min. prieš opaligės sukėlimą, suliedžiant kasdien po 0,75 ml į skrandį 100 g kūno masės. * – skirtumai statistiškai reikšmingi tarp I ir II gyvūnų grupių. + – skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su sveikų gyvūnų grupe.

Reikia pažymėti, kad po gydymo vingiorykštės žiedų tinktūra, mažesniai skaičiai žiurkių rastos skrandžio gleivinės erozijos, pilnakraujystė, infiltracija limfocitais ir ypač neutrofiliniais leukocitais, kurios minimalūs

pokyčiai aptikti tik vienai iš 9 žiurkių (11,1%), kas statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo gyvūnų, negavusių tinktūros. Nors infiltracija eozinofiliniais leukocitais aptikta vienodam gyvūnų skaičiui I ir II grupėse (3 lentelė), tačiau jos išraiška skyrėsi. Šalia minimalių pokyčių, vidutinė ir ryški infiltracija grupėje, negavusioje vingiorykštės žiedų tinktūros, rasta atitinkamai 44,4% ir 11,1% gyvūnų. Po gydymo ryškios infiltracijos nerasta nei vienam gyvūnui, o vidutinio laipsnio infiltracija nustatyta 44,4% žiurkių. Panašus vaizdas aptiktas ir vertinant infiltraciją limfocitais, kur, paskyrus vingiorykštės žiedų tinktūrą, padidėjo gyvūnų tik su minimaliais pokyčiais skaičius.

Bendra uždegiminė reakcija nors ir nustatyta visiems abiejų grupių gyvūnams, tačiau jos išraiška žiurkių, gavusių vingiorykštės žiedų tinktūrą, grupėje buvo šiek tiek mažesnė. Šioje grupėje taip pat nerasta ryškios uždegiminės reakcijos, kuri buvo stebėta 22,2% gyvūnų, negavusių gydymo, vidutinio laipsnio uždegiminė reakcija aptikta 55,5% žiurkių abiejose tiriamosiose grupėse.

Apibendrinant gautus duomenis, galima teigti, jog vingiorykštės žiedų tinktūra teigiamai veikė skrandžio gleivinę, ypač mažino infiltraciją neutrofiliniais leukocitais.

4.1.1.3. Žiurkių su eksperimentine opalige pro/antioksidacinės sistemos rodikliai kraujo serume gydant ją pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūra

Tiriant pro/antioksidacinės sistemos rodiklius kraujo serume ir lyginant juos su sveikų gyvūnų grupe, nustatyta, kad žiurkėms su eksperimentine opalige 12,7% sumažėja MDA. Stebimas statistiškai reikšmingas antioksidantinių fermentų KAT ir SOD aktyvumo bei AOA mažėjimas, atitinkamai 69,3%, 32,25% ir 71,6%. Po girdymo vingiorykštės žiedų tinktūra 1,5% sumažėjo MDA kiekis ir 21,15% SOD ($P < 0,002$) aktyvumas kraujo serume, lyginant su bandomąja, negavusia tinktūros, gyvūnų grupe. Reikšmingų skirtumų tiriant KAT kiekį ir AOA tarp gydytos ir negydytos grupių neaptikta, nors pastarasis padidėjo 36,2% (4 lentelė).

4 lentelė. Žiurkių su eksperimentine opalige pro/antioksidacinės sistemos rodikliai kraujo serume, gydant ją vingiorykštės žiedų tinktūra

Grupės		n	MDA (nmol/ml)	KAT (mmol/L/min)	SOD (vv/mL serumo)	AOA (slopinimo%)
I	Žiurkės su indukuota opa	9	5,49±0,26	26,95±0,76*	85,59±3,07*	9,09±3,32*
II	Žiurkės su opa girdytos vingiorykštės tinktūra	9	5,41±0,21	24,78±0,77*	+67,49±3,76*	12,38±1,41*
III	Sveikos žiurkės	10	6,29±0,37	+87,73±0,89	+126,33±4,13	+32,00±1,14

Pastaba: Eksperimentinė opaligė sukeliama indometacinu: pirmą dieną indometacino dozė 30 mg/kg *per os*, o maistas ir gėrimas *ad libitum*; antrą dieną – 30 mg/kg indometacino ir maitinimas nuo pusės dienos nutraukiamas, gėrimas *ad libitum*; trečia diena – 60 mg/kg indometacino, o maistas visai nutraukiamas, išskyrus gėrimą; ketvirta diena – dekapitacija, praėjus 24 val. po paskutinės indometacino dozės. Gydymas vingiorykštės žiedų tinktūra pradėtas 60 min. prieš opaligės sukėlimą, suleidžiant ją kasdien *per os* po 0,75 ml/100g kūno masės. MDA – maloninis dialdehidas, KAT – katalazės kiekis, SOD – superoksido dismutazės aktyvumas, AOA – antioksidacinis aktyvumas. (*) – skirtumai reikšmingi lyginant su sveikų gyvūnų grupe. (+) – skirtumai reikšmingi lyginant su I grupe.

Taigi, eksperimentinės opaligės metu kraujo serume mažėja antioksidacinių rodiklių aktyvumas. Vingiorykštės žiedų tinktūra nežymiai veikia lipidų peroksidacijos galinį produktą MDA ir KAT, reikšmingai sumažindama SOD aktyvumą, bei 36,2% sustiprindama AOA .

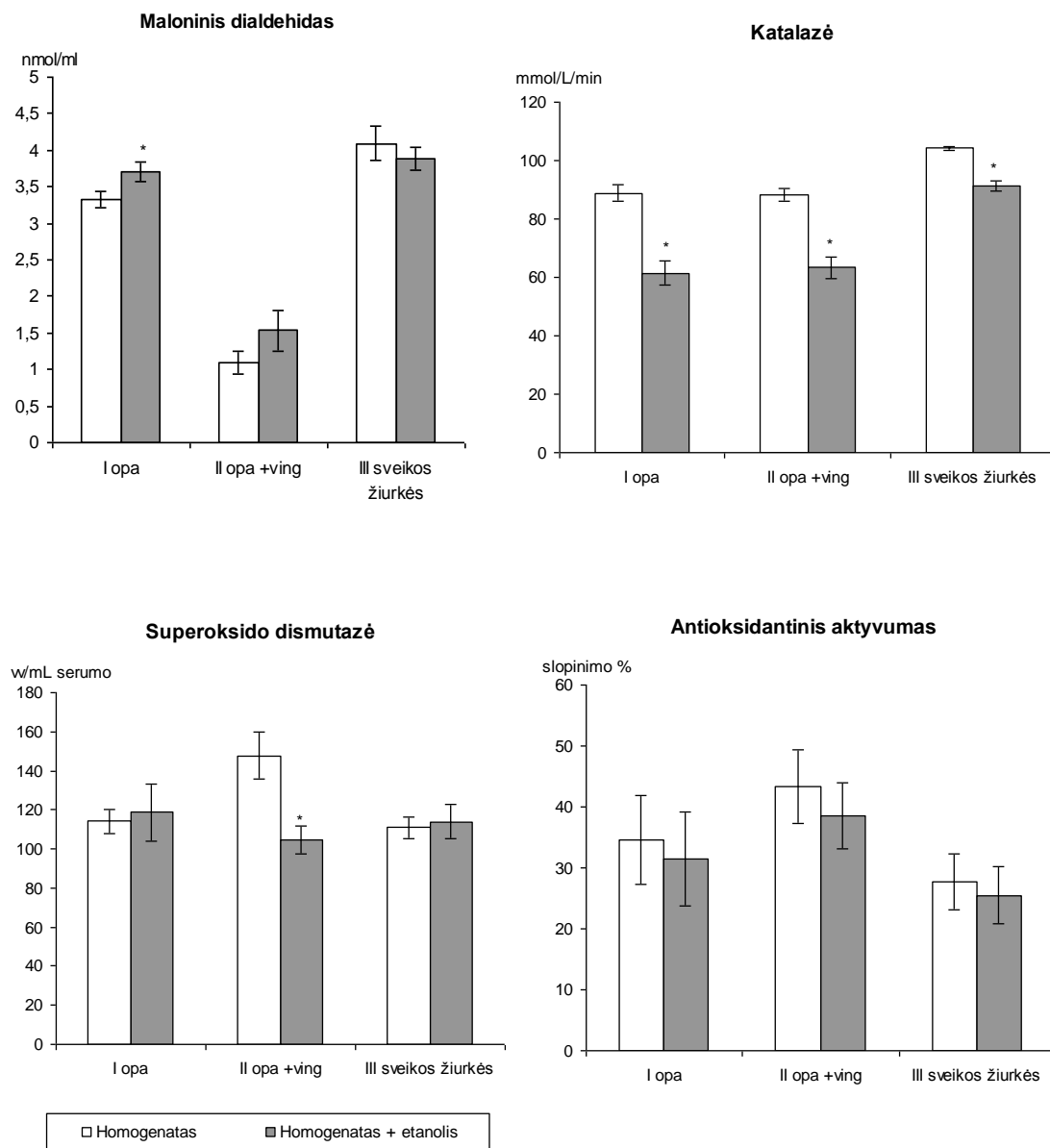
4.1.1.4. Pro/antioksidacinės sistemos rodikliai skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su eksperimentine opalige gydant ją pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūra

Kadangi pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūros gamybai buvo naudojamas 40° etanolis, mes savo darbe ištyrėme, kokią įtaką šio tirpiklio panaudojimas turi skrandžio audinio homogenatų pro/antioksidacinės sistemos rodikliams. Duomenys, pateikti 3 pav., rodo, kad pridėjus etanolio tirpalą prie skrandžio audinio homogenato, reikšmingai padidėja MDA kiekis žiurkių su eksperimentine opalige grupėje. KAT aktyvumas mažėja abiejose bandomojoje ir sveikų gyvūnų grupėse, o reikšmingas SOD aktyvumo sumažėjimas stebimas tik grupėje su eksperimentine opalige, girdyta vingiorykštės žiedų tinktūra. Tirpiklis neturėjo įtakos AOA.

Pro/antioksidacinės sistemos rodikliai skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su eksperimentine opalige, inkubuojant juos vingiorykštės žiedų tinktūra, pateikti 5 lentelėje.

Sveikų gyvūnų skrandžio audinio homogenatuose, inkubuotuose vingiorykštės žiedų tinktūra, buvo stebėtas statistiškai reikšmingas antioksidacinių fermentų KAT ir SOD aktyvumo sumažėjimas (atitinkamai 81,8% ir 10,5%) bei 2,4 kartus didesnis AOA ($P < 0,001$). MDA kiekis abiejuose sveikų gyvūnų pogrupiuose kito nežymiai ir sumažėjo tik 3,62%.

Po skrandžio gleivinės homogenatų inkubacijos vingiorykštės žiedų tinktūra, gyvūnams su eksperimentine opalige aptiktas statistiškai reikšmingas MDA ir AOA padidėjimas (atitinkamai 12% ir 86,5%), tuo tarpu kai antioksidacinių fermentų KAT ir SOD aktyvumas reikšmingai sumažėjo 79,65% ($P < 0,0001$) ir 26,5% ($P < 0,01$). Panašus vaizdas stebėtas ir eksperimentinės opaligės grupėje, gavusioje *per os* vingiorykštės žiedų tinktūrą. Po skrandžio audinio homogenatų inkubacijos šia tinktūra 27,5% padidėjo MDA ir statistiškai reikšmingai sumažėjo KAT (77,2%) ir SOD (47,8%) aktyvumas.



3 pav. 40° etanolio poveikis pro/antioksidacinės sistemos rodikliams skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su eksperimentine opalige gydant ją pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūra

(10% skrandžio audinio homogenatas pagamintas santykiu 1:9; viena dalis audinio ir devynios dalys buferio. (*)) - Skirtumai statistiškai reikšmingi tarp gryno homogenato ir homogenato su 40° etanoliumi).

Tik AOA reikšmingai padidėjo 59,08% ($P < 0,001$). Palyginus pro/antioksidacinės sistemos rodiklius skrandžio audinio homogenatuose tarp I (eksperimentinė opaligė) ir II (opaligė gydyta vingiorykštės žiedų tinktūra) grupių atitinkamų pogrupių pastebėta, kad vingiorykštės žiedų tinktūra, reikšmingai sumažino MDA kiekį abiejuose II grupės pogrupiuose atitinkamai

67,3% (grynas homogenatas) ir 62,7% (homogenatas + vingiorykštės žiedų tinktūra). KAT aktyvumas nesiskyrė abiejų bandomųjų grupių skrandžio audinio homogenatuose, tuo tarpu, kai homogenatuose, inkubuotuose vingiorykštės žiedų tinktūra, jis padidėjo 10,2% ir tapo artimas statistiškai reikšmingam ($t = 2,01$).

5 lentelė. Žiurkių su eksperimentine opalige pro/antioksidacinės sistemos rodikliai skrandžio audinio homogenatuose inkubuojant juos pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūra

Rod-muo	Grupės					
	I Eksperimentinė opaligė (n = 9)		II Opaligė + vingiorykštės ž. tinktūra (n = 9)		III Sveiki gyvūnai (n = 10)	
	Homog- natas	Homog.+ ving.ž.t.	Homogenatas	Homog.+ ving.ž.t.	Homog- natas	Homog.+ ving.ž.t.
MDA (nmol/ml)	3,33±0,11*	3,73±0,09 ⁺	1,09±0,15*	1,39±0,20*	4,01±0,23	3,87±0,06
KAT (mmol/L/min)	89,88±2,77*	18,29±0,71 ⁺	88,27±2,05*	20,16±0,60 ⁺	104,24±0,74	18,99±0,73 ⁺
SOD (vv/mLserumo)	114,07±6,33	83,82±7,78 ⁺	147,61±12,00*	77,02±8,51* ⁺	110,80±5,33	99,16±0,95 ⁺
AOA (slopini- mo%)	34,54±7,29	64,41±2,41 ⁺	43,33±6,13	68,93±1,58 ⁺	27,65±4,57	61,23±4,49 ⁺

Pastaba: 10% skrandžio audinio homogenatas pagamintas santykiu 1:9; viena dalis audinio ir devynios dalys buferio. (*) - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su atitinkamomis sveikų gyvūnų grupėmis. (+) - Skirtumai statistiškai reikšmingi atskirose grupėse tarp gryno homogenato ir homogenato inkubuoto vingiorykštės žiedų tinktūra pogrupių. (•) -Skirtumai statistiškai reikšmingi tarp I ir II atitinkamų bandomųjų grupių.

Reikšmingai padidėjo (29,4%) ir antioksidacinio fermento SOD aktyvumas II grupės skrandžio audinio homogenatuose. Inkubavus homogenatus vingiorykštės žiedų tinktūra neaptikta reikšmingų skirtumų tarp I ir II grupių. Nerasta statistiškai reikšmingų skirtumų ir tarp atitinkamų I ir II grupės vertinant AOA, nors jis ir padidėjo II bandomojoje grupėje atitinkamai 25,5% (grynas homogenatas) ir 7,02% (homogenatas + vingiorykštės žiedų tinktūra).

Taigi, nors skrandžio audinio homogenatų inkubacija pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūra ir sumažina antioksidacinių fermentų aktyvumą,

tačiau stipriai padidina bendrą AOA. Gydamas eksperimentinę opaligę vingiorykštės žiedų tinktura *per os* ryškiai sumažėja oksidacinio pažeidimo rodmens MDA kiekis skrandžio audinio homogenatuose.

4.1.2. Sveikų žiurkių medikamentinė skrandžio opaligė ir jos gydymas kaštono žiedų tinktura

4.1.2.1. Kaštono žiedų tinktūros poveikis kraujo serumo pro/antioksidacinės sistemos rodikliams žiurkėms su eksperimentine opalige

Tiriamas pro/antioksidacinės sistemos rodiklius kraujo serume žiurkėms su eksperimentine opalige aptiktas 12,7% MDA padidėjimas ir statistiškai reikšmingas antioksidacinių fermentų KAT ($P < 0,0001$) ir SOD ($P < 0,02$) kiekio bei AOA ($P < 0,01$) sumažėjimas atitinkamai 48,5%, 32,78% ir 55,5% lyginant su sveikų gyvūnų grupe (6 lentelė).

5 lentelė. Žiurkių su eksperimentine opalige pro/antioksidacinės sistemos rodikliai kraujo serume, gydamas ją kaštonų žiedų tinktura

Grupės		n	MDA (nmol/ml)	KAT (mmol/L/min)	SOD (vv/mL serumo)	AOA (slopinimo%)
I	Žiurkės su indukuota opa	9	5,51±0,27	46,59±2,82*	87,47±10,20*	14,76±5,12*
II	Žiurkės su opa girdytos kaštonų žiedų tinktura	9	5,01±0,21	+67,52±3,18*	112,31±8,70	21,14±4,87*
III	Sveikos žiurkės	10	4,89±0,31	+90,43±3,12	+130,13±11,02	+33,17±2,96

Pastaba: Eksperimentinė opaligė sukeliama indometacinu: pirmą dieną indometacino dozė 30 mg/kg *per os*, o maistas ir gėrimas *ad libitum*; antrą dieną – 30 mg/kg indometacino ir maitinimas nuo pusės dienos nutraukiamas, gėrimas *ad libitum*; trečia diena – 60 mg/kg indometacino, o maistas visai nutraukiamas, išskyrus gėrimą; ketvirta diena – dekapitacija, praėjus 24 val. po paskutinės indometacino dozės. Gydymas kaštono žiedų tinktura pradėtas 60 min. prieš opaligės sukėlimą, suleidžiant ją kasdien *per os* po 0,75 ml/100g kūno masės. MDA – maloninis dialdehidai, KAT – katalazės kiekis, SOD – superoksido dismutazės aktyvumas, AOA – antioksidacinis aktyvumas. (*) – skirtumai reikšmingi lyginant su sveikų gyvūnų grupe. (+) – skirtumai reikšmingi lyginant su I grupe.

Po gydymo kaštonų žiedų tinktura išliko statistiškai reikšmingai mažesnis lyginant su sveikais gyvūnais KAT aktyvumas (25,3% sumažėjimas;

$P < 0,001$) ir AOA (36,27% sumažėjimas; $P = 0,05$) kraujo serume. Tačiau palyginus I ir II grupių rodiklius, II grupėje aptikta MDA kiekio mažėjimo tendencija (9,07%) bei antioksidacinių fermentų kiekio ir AOA didėjimas. KAT aktyvumas statistiškai reikšmingai padidėjo 44,9% ($P < 0,001$), SOD – 28,4%, o AOA - 43,22%, nors pastarieji du rodikliai ir nesiskyrė reikšmingai lyginant su eksperimentinės opaligės gyvūnų grupe.

Taigi, kaštonų žiedų tinktura teigiamai veikė pro/antioksidacinės sistemos rodiklius kraujo serume, ypač KAT aktyvumą.

4.1.2.2. Paprastojo kaštono žiedų tinkūros *in vitro* poveikis pro/antioksidacinės sistemos rodikliams skrandžio gleivinės homogenatuose žiurkėms su eksperimentine opalige.

Kaštonų žiedų tinkūros gamybai taip pat buvo naudojamas 40° etanolis. Duomenys apie jo poveikį skrandžio gleivinės pro/antioksidacinės sistemos rodikliams pateikti 3 pav. ir aprašyti 4.1.1.4. skyriuje.

Sveikų gyvūnų skrandžio gleivinės homogenatuose, inkubavus juos kaštono žiedų tinktura (7 lentelė), stebėtas statistiškai reikšmingas ($P < 0,001$) antioksidacinio fermento KAT aktyvumo sumažėjimas 22,5% ir SOD padidėjimas 21,6% (skirtumas tarp tirtų pogrupių artimas statistiškai reikšmingam; $t = 2,04$). AOA skrandžio audinio homogenatuose po inkubacijos kaštono žiedų tinktura reikšmingai padidėjo 1,76 karto ($P < 0,002$), o MDA kiekis abiejuose sveikų gyvūnų pogrupiuose buvo vienodas.

Gyvūnams su eksperimentine opalige skrandžio gleivinės homogenatų inkubacija kaštono žiedų tinktura lyginant su gryno homogenato pogrupe 16,2% padidino MDA ($P < 0,02$), 19,5% - SOD aktyvumą, bei 23,85% - AOA. KAT kiekis po inkubacijos minėta tinktura sumažėjo dvigubai ($P < 0,001$). Panašus vaizdas stebėtas ir eksperimentinėje grupėje, gavusioje *per os* kaštono žiedų tinkturą. Po skrandžio audinio inkubacijos šia tinktura 48,6% padidėjo MDA ($P <$

0,05), beveik dvigubai sumažėjo KAT ($P < 0,001$) ir 27,53% SOD aktyvumas. AOA po skrandžio audinio homogenato inkubacijos kaštono žiedų tinktūra šioje grupėje padidėjo tik 6,76%.

Palyginus pro/antioksidacinės sistemos rodiklius skrandžio audinio homogenatuose tarp I (eksperimentinė opaligė) ir II (opaligė gydyta kaštono žiedų tinktūra) grupių atitinkamų pogrupių pastebėta, kad gydymas kaštono žiedų tinktūra, reikšmingai sumažino MDA kiekį abiejuose II grupės pogrupiuose atitinkamai 67,3% (grynas homogenatas) ir 58,14% (homogenatas + kaštono žiedų tinktūra). KAT aktyvumas nežymiai skyrėsi tiek abiejų bandomųjų grupių skrandžio audinio homogenatuose, tiek ir homogenatuose inkubuotuose kaštono žiedų tinktūra, nors pastarojoje jis padidėjo 13,1%.

Nors antioksidacinio fermento SOD aktyvumas II grupės, gavusios *per os* kaštono žiedų tinktūrą, reikšmingai padidėjo 29,4% ($P < 0,05$) grynuose skrandžio audinio homogenatuose, inkubavus juos kaštono žiedų tinktūra, aptiktas nereikšmingas SOD aktyvumo sumažėjimas 29,3%.

Nerasta ir statistiškai reikšmingų skirtumų tarp atitinkamų I ir II grupės pogrupių vertinant AOA, nors jis ir padidėjo II bandomojoje grupėje atitinkamai 25,4% (grynas homogenatas) ir 8,13% (homogenatas + kaštono žiedų tinktūra).

Taigi, žiurkių su eksperimentine opalige skrandžio gleivinės homogenatų inkubacija kaštono žiedų tinktūra dvigubai sumažina antioksidacinio fermento KAT aktyvumą, padidina MDA kiekį ir nežymiai stimuliuoja SOD aktyvumą ir AOA.

Gydant eksperimentinę opaligę kaštono žiedų tinktūra *per os* ryškiai sumažėja oksidacinio pažeidimo rodiklis MDA kiekis skrandžio audinio homogenatuose. Nors po gydymo *per os* stebimas reikšmingas SOD kiekio padidėjimas gryname skrandžio audinio homogenate, tačiau jis nereikšmingai sumažėja inkubavus homogenatą kaštono žiedų tinktūra.

7 lentelė. Žiurkių su eksperimentine opaligė pro/antioksidacinės sistemos rodikliai skrandžio audinio homogenatuose inkubuojant juos kaštono žiedų tinktura

Rodmuo	Grupės					
	I Eksperimentinė opaligė (n = 9)		II Eksperimentinė opaligė + kaštono žiedų tinktura (n = 9)		III Sveiki gyvūnai (n = 10)	
	Homogenatas	Homog.+ kašt.ž.t.	Homogenatas	Homog.+ kašt.ž.t.	Homogenatas	Homog.+ kašt.ž.t.
MDA (nmol/ml)	3,33±0,11*	+3,87±0,18	•1,09±0,15*	•+1,62±0,17*	4,01±0,23	4,18±0,23
KAT (mmol/L/ min)	89,88±2,77*	+42,34±4,02*	88,27±2,05*	+47,89±4,96*	104,24±0,74	+80,82±2,85
SOD (vv/mL serumo)	114,07±6,33	136,29±19,16	•147,61±12,00*	+106,98±11,36*	110,80±5,33	134,75±10,46
AOA (slopinimo%)	34,54±7,29	42,78±3,30	43,33±6,13	46,26±3,76	27,65±4,57	+48,67±3,41

Pastaba: 10% skrandžio audinio homogenatas pagamintas santykiu 1:9; viena dalis audinio ir devynios dalys buferinio tirpalo. (*) - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su atitinkamomis sveikų gyvūnų grupėmis. (+) - Skirtumai statistiškai reikšmingi atskirose grupėse tarp gryno homogenato ir homogenato + kaštono žiedų tinktūros pogrupių. (•) - Skirtumai statistiškai reikšmingi tarp I ir II atitinkamų bandomųjų grupių.

4.1.3. Žiurkių, sergančių adjuvantiniu artritu, eksperimentinė opaligė ir jos gydymas augaliniais preparatais

Kadangi viena iš RA etiopatogenezės grandžių yra oksidacinis stresas, o be to šiems ligoniams dažnai pažeidžiamas virškinamasis traktas, mes savo darbe sukėlėme eksperimentinę opaligę žiurkių adjuvantinio artrito metu (AA) ir įvertinome histologinius ir biocheminius pokyčius skrandyje bei pro/antioksidacinės sistemos būklę gydant patologinį procesą augaliniais preparatais.

4.1.3.1. Pelkinės vingiorykštės žiedų tinkūros poveikis makroskopiniams pokyčiams skrandžio gleivinėje žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige

8 lentelėje pateikti makroskopiniai skrandžio gleivinės pažeisto ploto duomenys, sukėlus eksperimentinę opaligę žiurkėms su AA ir gydant ją pelkinės vingiorykštės žiedų tinkūra.

8 lentelė. Skrandžio gleivinės pažeidimo plotas skiriant pelkinės vingiorykštės žiedų tinkūrą žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige

Rodmuo	Grupės			
	I AA	II AA+opa	III AA+opa+ Vingiorykštės ž.t.	IV Sveikos žiurkės
Bendras skrandžio plotas (mm²)	866,73±30,82*	839,41±26,60*	774,35±46,75	1122,37±86,08
Antrum dalies plotas (mm²)	232,32±11,50*	265,22±15,53	211,87±20,84	321,21±26,54
Antrum pažeistos dalies plotas (mm²)	-	51,85±10,80	46,74±11,39	-
Pažeidimo indeksas	-	5,12	4,53	-

Pastaba: AA – adjuvantinis artritas sukeltas suleidžiant į kairės kojos padą 0,1 ml pilnojo Froindo adjuvanto. Eksperimentinė opaligė 9 AA dieną sukelta indometacinu, kaip aprašyta metodikoje. Gydymas vingiorykštės žiedų tinkūra pradėtas 60 min. prieš opaligės sukėlimą, suleidžiant ją kasdien *per os* po 0,75 ml/100g kūno masės. Skrandžio gleivinės pažeidimo plotas apskaičiuotas panaudojant kompiuterinę planimetrijos programą, skrandžio gleivinės vaizdą pavertus skaitmenine nuotrauka. Skrandžio gleivinės pažeidimo indeksas yra opaligės pažeistų zonų ploto ir liaukinės dalies ploto santykis. * - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su sveikų gyvūnų grupe.

Kaip matome, po gydymo vingiorykštės žiedų tinkūra skrandžio gleivinės pažeidimo indeksas sumažėjo 11,5%.

4.1.3.2. Pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūros poveikis histologiniams pokyčiams skrandžio gleivinėje žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige

Kontrolinės AA grupės žiurkių skrandyje rasti pilnakraujystės, infiltracijos limfocitais, makrofagais, neutrofiliniais ir eozinofiliniais leukocitais (62.5%) pėdsakai bei minimali infiltracija limfocitais (12.5%) bei eozinofiliniais leukocitais (25%) (9 lentelė ir 4 pav.).

Bendros uždegiminės reakcijos pėdsakai ir minimalūs pokyčiai rasti atitinkamai 87.5% ir 12.5% gyvūnų. Lyginant su sveikų gyvūnų grupe reikšmingai padidėjo limfocitų, makrofagų ir eozinofilinių leukocitų infiltracija bei bendra uždegiminė reakcija.

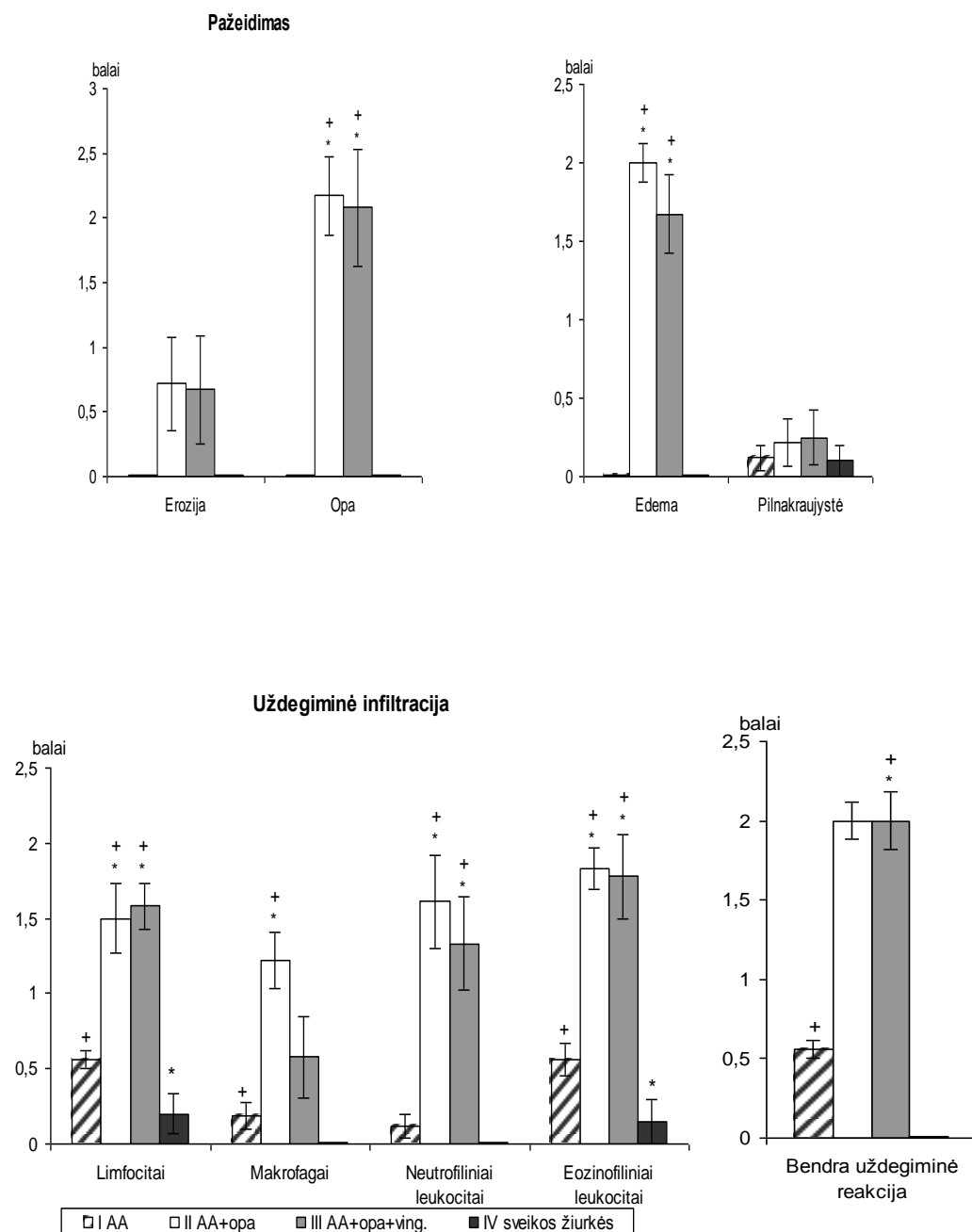
Žiurkėms su AA ir sukelta skrandžio gleivinės opalige (II gr.) aptiktas gana ryškus skrandžio gleivinės pažeidimas: 33,3% gyvūnų nustatyta vidutinio laipsnio (22,2%) ir ryški (11,1%) erozija bei 88,9% gyvūnų atsirado opos (9 lentelė), iš kurių pusei tirtų gyvūnų jos buvo ryškios, o kitai pusei vidutinės. Visiems šios grupės gyvūnams (100%) rasta edema, infiltracija eozinofiliniais leukocitais bei virš 3 kartų padidėjusi bendra uždegiminė reakcija. Panašus vaizdas ir III grupėje, gydytoje vingiorykštės žiedų tinktūra. Infiltracija limfocitais abiejose bandomosiose grupėse (II ir III gr.) lyginant su kontrole padidėjo 2,7-2,8 karto, eozinofilinių leukocitų virš 3 kartų. Tokia pati abiejose grupėse buvo ir bendra uždegiminė reakcija. Po gydymo vingiorykštės žiedų tinktūra 16,5% sumažėjo edema, dvigubai infiltracija makrofagais (52,5%). II bandomojoje grupėje iki 12,9 kartų padidėjusi infiltracija neutrofiliniais leukocitais, po gydymo vingiorykštės žiedų tinktūra sumažėjo 17,4%.

9 lentelė. Patomorfologiniai pokyčiai skrandžio gleivinėje (procentais) skiriant pelkinės vingiorykštės žiedų tinkūrą žiurkėms su adjuvantiniu artritu (AA) ir eksperimentine opalige

Pokyčiai		Grupės				
		I AA n/n (%)	II AA+ opa n/n (%)	III AA+opa+ ving. n/n (%)	IV Sveikos žiurkės n/n (%)	
Pažeidimas	Erozija	-	3/9 (33,3%)	2/6 (33,3%)	-	
	Opa	-	8/9 (88,9%)	5/6 (83,3%)	-	
Edema		-	9/9 (100%)	6/6 (100%)	-	
Pilnakraujystė		2/8 (25%)	2/9 (22,2%)	2/6 (33,3%)	1/10 (10%)	
Uždegiminė infiltracija	Limfocitai		8/8 (100%)	8/9 (88,9%)	6/6 (100%)	2/10 (20%)
	Makrofagai		3/8 (37,5%)	8/9 (88,9%)	3/6 (50%)	-
	Leukocitai	Neutrofiliniai	2/8 (25%)	7/9 (77,8%)	5/6 (83,3%)	-
		Eozinofiliniai	7/8 (87,5%)	9/9 (100%)	6/6 (100%)	1/10 (10%)
Bendra uždegiminė reakcija		8/8 (100%)	9/9 (100%)	6/6 (100%)	-	

Pastaba: AA - adjuvantinis artritas sukeltas suleidžiant į kairės kojos padą 0,1 ml pilnojo Froindo adjuvanto. Eksperimentinė opaligė II ir III grupėms sukelta 9 AA dieną indometacinu, kaip aprašyta metodikos skyriuje. Gydytas vingiorykštės žiedų tinkūra pradėtas 60 min. prieš opaligės sukėlimą, skiriant ją kasdien *per os* po 0,75 ml 100g kūno masės. n/n – skaičius kairėje – gyvūnai su pokyčiais, skaičius dešinėje – bendras tirtų gyvūnų skaičius. % - gyvūnų su pokyčiais procentinė išraiška.

Apibendrinant galima teigti, kad, nors ir nebuvo gauta reikšmingų skirtumų tarp gyvūnų su AA ir eksperimentine skrandžio opalige gydytos ir negydytos grupių, vingiorykštės žiedų tinkūra sumažino gleivinės edemą, infiltraciją makrofagais ir neutrofiliniais leukocitais.



4 pav. Patomorfologiniai pokyčiai skrandžio gleivinėje skiriant pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūrą žiurkėms su adjuvantiniu artritu (AA), ir eksperimentine opalige.

AA – adjuvantinis artritas sukeltas suleidžiant į kairės kojos padą 0,1 ml pilnojo Froindo adjuvanto. Skrandžio opa II ir III grupėms sukurta 9 AA dieną indometacinu, kaip aprašyta metodikoje. Gydymas vingiorykštės žiedų tinktūra pradėtas 60 min. prieš opaligės sukėlimą, skiriant ją kasdien *per os* po 0,75 ml 100g kūno masės. * – skirtumai statistiškai reikšmingi, lyginant su kontroline AA grupe. + - skirtumai statistiškai reikšmingi, lyginant su sveikų gyvūnų grupe.

4.1.3.3. Pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūros poveikis pro/antioksidacinės sistemos rodikliams kraujo serume žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige

Sukėlus žiurkėms su AA eksperimentinę opaligę, statistiškai reikšmingai sumažėjo MDA (21%) kiekis ir antioksidacinio fermento KAT (62,4%) aktyvumas kraujo serume, lyginant su kontroline AA grupe (10 lentelė). Ypač ryškiai, net iki 94,8% ($P < 0,0001$), sumažėjo AOA, tuo metu kai SOD aktyvumas krito tik 8,4%.

Lyginant su kontroline AA grupe, po gydymo vingiorykštės žiedų tinktūra (II gyvūnų grupė), išliko reikšmingai mažesnis MDA kiekis ir KAT aktyvumas, bei aptiktas iki 65,5% AOA slopinimas. Reikia pažymėti, kad SOD aktyvumas, lyginant su kontroline grupe, statistiškai reikšmingai padidėjo 33,2%.

Palyginus II ir III grupių pro/antioksidacinės sistemos rodiklius, matome, kad po gydymo vingiorykštės žiedų tinktūra žiurkėms su AA ir opalige (III gr.) statistiškai reikšmingi skirtumai rasti įvertinus SOD ir AOA aktyvumą (žr. 10 lentelę). AOA aktyvumas padidėjo 6,6 karto, o SOD - 45,46%.

Apibendrinant, galima konstatuoti, kad eksperimentinė opaligė, sukelta žiurkėms su AA, stipriai mažina antioksidacinio fermento KAT aktyvumą ir bendrą AOA kraujo serume. Po gydymo vingiorykštės žiedų tinktūra AOA ir SOD aktyvumas reikšmingai padidėja.

10 lentelė. Pro/antioksidacinės sistemos rodikliai kraujo serume, skiriant pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūrą žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige.

Grupės		n	MDA (nmol/ml)	KAT (mmol/L/min)	SOD (vv/mL serumo)	AOA (slopinimo%)
I	Žiurkės su AA	8	+6,67±0,09	+95,53±1,11	138,04±15,23	+37,41±1,13
II	Žiurkės su AA ir indukuota opa	6	5,27±0,09*	35,93±1,49*	126,39±2,94	1,95±1,36*
III	Žiurkės su AA ir indukuota opa, girdytos vingiorykštės t.	9	5,23±0,18*	34,35±1,57*	+183,85±5,47*	+12,89±4,43*

Pastaba: Adjuvantinis artritas (AA) sukeltas suleidžiant į kairės kojos padą 0.1 ml pilnojo Froindo adjuvanto. Eksperimentinė opaligė sukeliama indometacinu. Gydymas vingiorykštės žiedų tinktūra pradėtas 60 min. prieš opaligės sukėlimą, skiriant ją kasdien *per os* po 0,75 ml 100g kūno masės. MDA – maloninis dialdehididas, KAT – katalazės kiekis, SOD – superoksido dismutazės aktyvumas, AOA – antioksidantinis aktyvumas. (*) – Skirtumai reikšmingi lyginant su kontroline AA grupe. (+) – Skirtumai reikšmingi lyginant gydytas ir negydytas grupes su AA ir eksperimentinės opaligės grupe.

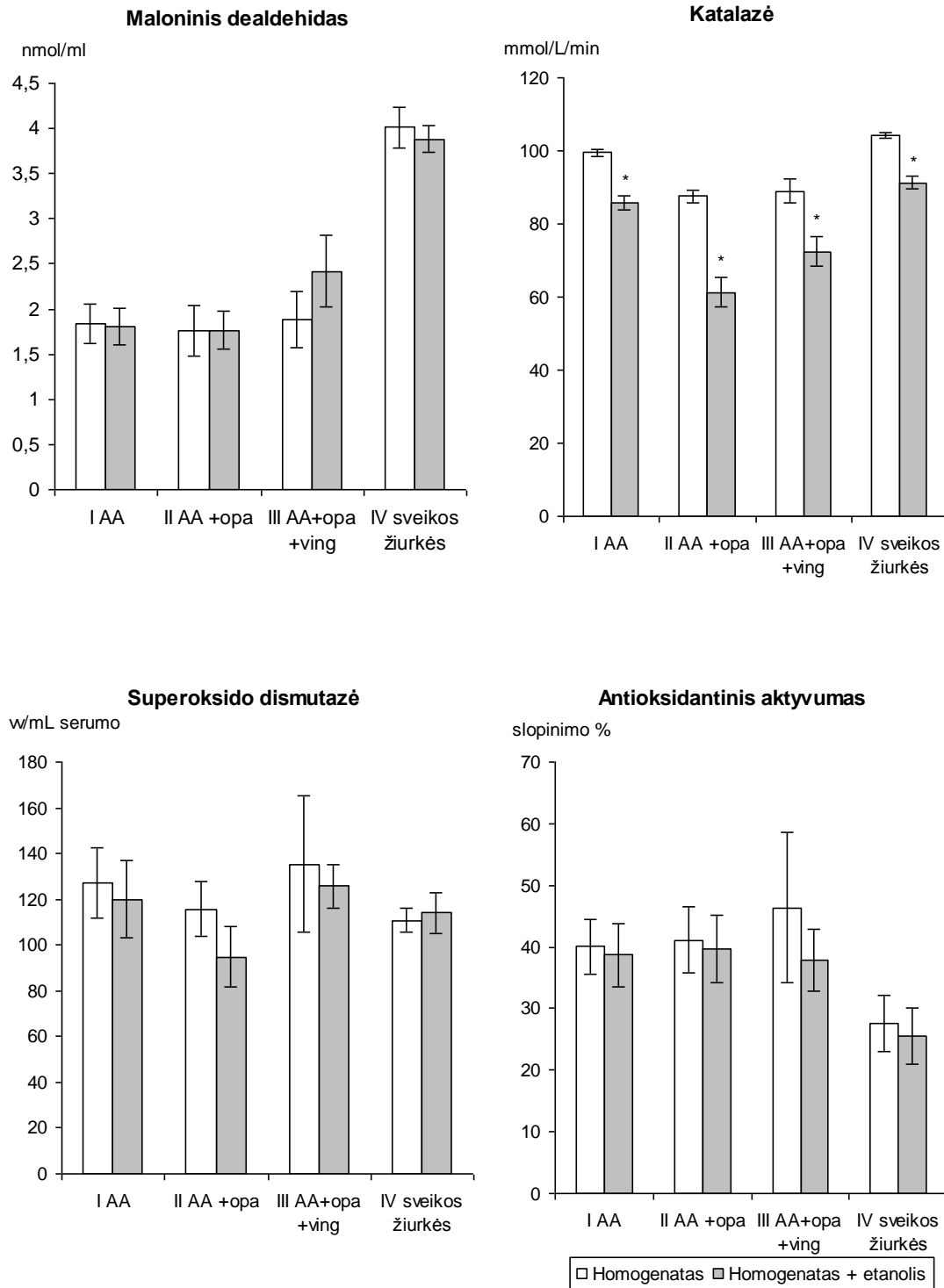
4.1.3.4. Pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūros poveikis pro-antioksidacinės sistemos rodikliams skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige

Kaip jau buvo minėta, vingiorykštės žiedų tinktūros gamybai naudotas 40° etilo alkoholis. Todėl 5 pav. palyginti pro/antioksidacinės sistemos rodikliai žiurkių su AA ir opalige, gydytų ir negydytų vingiorykštės žiedų tinktūra, skrandžio audinio homogenatuose be etanolio ir pridėjus pastarąjį. Skrandžio audinio homogenatų inkubacija etanolio tirpalu reikšmingai sumažino tik KAT aktyvumą visose tirtose grupėse. Tirpiklis neturėjo reikšmingos įtakos MDA, SOD ir AOA rodikliams.

Pro/antioksidacinės sistemos rodikliai žiurkių su AA ir eksperimentine opalige skrandžio audinio homogenatuose po inkubacijos vingiorykštės žiedų tinktūra pateikti 11 lentelėje. Visų trijų gyvūnų grupių (bandomųjų ir AA kontrolės), tiek grynuose skrandžio audinio homogenatuose, tiek ir inkubuotuose vingiorykštės žiedų tinktūra buvo sumažėjęs MDA kiekis, kuris statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo sveikų gyvūnų grupės ($P < 0,001$). Reikšmingų skirtumų tarp minėtų pogrupių (grynas homogenatas ir

homogenatas inkubuotas vingiorykštės žiedų tinktura) neaptikta, kaip ir nerasta jų tarp kontrolinės AA grupės ir abiejų bandomųjų grupių.

Visų trijų grupių skrandžio gleivinės homogenatuose KAT kiekis buvo mažesnis nei sveikų gyvūnų grupėje ($P < 0,002-0,001$). Lyginant su neinkubuotais homogenatais, po inkubacijos vingiorykštės žiedų tinktura, KAT aktyvumas bandomųjų grupių homogenatuose reikšmingai sumažėjo nuo 4 iki 4,85 karto ir 5,5 karto sveikų žiurkių homogenatuose ($P < 0,0001$). Iš visų trijų bandomųjų grupių didžiausias KAT kiekis stebėtas AA grupėje ir, lyginant su ja, reikšmingai sumažėjo tiek II grupės gyvūnams su AA ir eksperimentine opalige ($P < 0,01-0,001$), tiek ir gydytiems vingiorykštės žiedų tinktura *per os* ($P < 0,01-0,02$).



5 pav. 40° etanolio poveikis pro/antioksidacinės sistemos rodikliams skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su adjuvantiniu artritu (AA) ir eksperimentine opalige gydant pastarąją pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūra

(10% skrandžio audinio homogenatas pagamintas santykiu 1:9; viena dalis audinio ir devynios dalys buferinio tirpalo. (*) - Skirtumai statistiškai reikšmingi tarp gryno homogenato ir homogenato su 40° etanolium).

Tik II grupės žiurkėms su AA ir eksperimentine opalige, lyginant su sveikų gyvūnų grupe, SOD aktyvumas reikšmingai sumažėjo 20,5% skrandžio audinio homogenatuose inkubuotuose vingiorykštės žiedų tinktūra ($P < 0,05$). Kitose grupėse reikšmingų skirtumų lyginant su sveikais gyvūnais nerasta, nors II grupės žiurkėms, gavusioms vingiorykštės žiedų tinktūrą, jis buvo didžiausias ir skyrėsi nuo sveikų gyvūnų grupės 22%.

Nors homogenatų inkubacija vingiorykštės žiedų tinktūra sumažino SOD aktyvumą, tačiau reikšmingi skirtumai tarp gryno homogenato ir inkubuoto minėta tinktūra aptikti tik gyvūnams su AA ir eksperimentine opalige ($P < 0,05$) ir sveikoms žiurkėms ($P < 0,05$).

Tiriant AOA nerasta reikšmingų skirtumų nei lyginant su sveikais gyvūnais, nei tarp tiriamųjų grupių, nors jo aktyvumas visų bandomųjų grupių skrandžio audinio homogenatuose buvo atitinkamai 44,7%, 48,75% ir 67,6% didesnis nei sveikiems gyvūnams. Homogenatų inkubacija vingiorykštės žiedų tinktūra padidino AOA ir statistiškai reikšmingi skirtumai tarp gryno ir inkubuoto homogenatų aptikti I (AA; $P < 0,05$), II (AA ir eksperimentinė opaligė; $P < 0,02$), ir sveikų gyvūnų grupėje ($P < 0,001$).

11 lentelė. Pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūros poveikis pro/antioksidacinės sistemos rodikliams skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige.

Rodmuo	Grupės							
	I AA (n = 9)		II AA, eksperimentinė opaligė (n = 8)		III AA, eksperimentinė opaligė ir girdymas ving. ž. tink. (n = 6)		IV Sveikos žiurkės (n = 10)	
	Homoge- natas	Homog.+ ving.ž.t.	Homoge- natas	Homog.+ ving.ž.t.	Homoge- natas	Homog.+ ving.ž.t.	Homoge- natas	Homog.+ ving.ž.t.
MDA (nmol/ml)	1,84±0,22*	2,29±0,36*	1,76±0,28*	2,29±0,16*	1,89±0,31*	2,28±0,24*	4,01±0,23	3,87±0,06
KAT (mmol/L/min)	99,47±0,94*	+24,45±0,95*	*87,53±1,60*	+19,61±1,14*	*88,96±3,20*	+18,35±1,23*	104,24±0,74	+18,99±0,73
SOD (vv/mL serumo)	127,21±15,55	92,28±14,18	115,79±12,18	+78,88±9,48*	135,45±29,76	101,00±13,17	110,80±5,33	99,16±0,95
AOA (slopinimo%)	40,02±4,46	+57,39±5,25	41,13±5,40	+62,07±5,30	46,35±12,17	51,15±10,90	27,65±4,57	+61,23±4,49

Pastaba: Adjuvantinis artritas (AA) sukeltas suleidžiant į kairės kojos padą 0,1 ml pilnojo Froindo adjuvanto. Eksperimentinė opaligė 9 AA dieną sukelta kaip aprašyta metodikos skyriuje. Gydytas vingiorykštės žiedų tinktūra pradėtas 60 min. prieš opaligės sukėlimą, skiriant ją kasdien *per os* po 0,75 ml 100g kūno masės. 10% skrandžio audinio homogenatas pagamintas santykiu 1:9; viena dalis audinio ir devynios dalys buferinio tirpalo. MDA – maloninis dialdehididas, KAT – katalazė, SOD – superoksido dismutazė, AOA – antioksidantinis aktyvumas.

(*) - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su atitinkamomis sveikų gyvūnų grupėmis. (+) - Skirtumai statistiškai reikšmingi atskirose grupėse tarp gryno homogenato ir homogenato, inkubuoto vingiorykštės žiedų tinktūra, pogrupių. (•) - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su kontrolinės AA grupės atitinkamais pogrupiais.

Apibendrinant gautus duomenis galime teigti, kad ryškiausi pokyčiai gauti tiriant KAT aktyvumą skrandžio audinio homogenatuose, inkubuotuose vingiorykštės žiedų tinktūra, kuriuose stebėtas ryškus šio fermento aktyvumo sumažėjimas. Gali būti, kad tokį mažėjimą sukėlė tirpiklis etanolis, nes kaip parodyta 5 pav., jo pridėjimas prie homogenato stipriai mažino KAT kiekį jame. Reikšmingas SOD aktyvumo sumažėjimas po homogenatų inkubacijos vingiorykštės žiedų tinktūra stebėtas tik grupėje su AA ir sukelta eksperimentine opalige, tačiau AOA skrandžio gleivinės homogenatuose reikšmingai padidėjo tiek pastariesiems, tiek ir AA kontrolės gyvūnams.

4.1.3.5. Paprastojo kaštono žiedų tinktūros poveikis pro/antioksidacinės sistemos rodikliams skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige

Pro/antioksidacinės sistemos rodikliai skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su AA ir sukelta eksperimentine opalige, inkubuojant juos kaštono žiedų tinktūra, pateikti 12 lentelėje. Kaip ir inkubacijos vingiorykštės žiedų tinktūra atveju, MDA kiekis visų bandomųjų grupių skrandžio audinio homogenatuose, tiek grynuose, tiek ir inkubuotuose kaštono žiedų tinktūra, buvo sumažėjęs ir reikšmingai skyrėsi nuo sveikų gyvūnų grupės ($P < 0,001$), išskyrus III grupės gyvūnų inkubuotus homogenatus, kuriuose MDA nors ir buvo sumažėjęs 37,08%, tačiau reikšmingai nesiskyrė nuo sveikų žiurkių. Statistiškai reikšmingų skirtumų tarp minėtų pogrupių (grynas homogenatas ir homogenatas, inkubuotas kaštono žiedų tinktūra) neaptikta II, III ir IV gyvūnų grupėse. Ir tik I grupės žiurkėms su AA, inkubavus skrandžio audinio homogenatus kaštono žiedų tinktūra, MDA statistiškai reikšmingai padidėjo ($P < 0,02$).

12 lentelė. Paprastojo kaštono žiedų tinkūros poveikis pro-antioksidacinės sistemos rodikliams skrandžio audinio homogenatuose žiurkėms su adjuvantiniu artritu ir eksperimentine opalige.

Rodmuo	Grupės							
	I AA (n = 9)		II AA, eksperimentinė opaligė (n = 8)		III AA, eksperimentinė opaligė ir kašt.ž. tink. (n = 6)		IV Sveikos žiurkės (n = 10)	
	Homoge- natas	Homog.+ kašt.ž.t.	Homoge- natas	Homog.+ kašt.ž.t.	Homoge- natas	Homog.+ kašt.ž.t.	Homoge- natas	Homog.+ kašt.ž.t.
MDA (nmol/ml)	1,84±0,22*	+2,58±0,18*	1,76±0,28*	2,06±0,21*	1,89±0,31*	2,63±0,82	4,01±0,23	4,18±0,23
KAT (mmol/L/min)	99,47±0,94*	+77,18±3,25	* 87,53±1,60*	+48,46±1,88* •	* 88,96±3,20*	+55,96±5,00* •	104,24±0,74	+80,82±2,85
SOD (vv/mL serumo)	127,21±15,55	122,53±13,27	115,79±12,18	133,57±20,63	135,45±29,76	126,70±24,10	110,80±5,33	134,75±10,46
AOA (slopinimo%)	40,02±4,46	44,00±5,54	41,13±5,40	46,30±5,16	46,35±12,17	37,10±5,67	27,65±4,57	+48,67±3,41

Pastaba: Adjuvantinis artritas (AA) sukeltas suleidžiant į kairės kojos padą 0,1 ml pilnojo Freund'o adjuvanto. Eksperimentinė opaligė 9 AA dieną sukelta kaip aprašyta metodikos skyriuje. 10% skrandžio audinio homogenatas pagamintas santykiu 1:9; viena dalis audinio ir devynios dalys buferinio tirpalo. Gydytas kaštono žiedų tinkūra pradėtas 60 min. prieš opaligės sukėlimą, skiriant ją kasdien *per os* po 0,75 ml 100g kūno masės. MDA – maloninis dialdehidai, KAT – katalazė, SOD – superoksido dismutazė, AOA – antioksidantinis aktyvumas. (*) - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su atitinkamomis sveikų gyvūnų grupėmis. (+) - Skirtumai statistiškai reikšmingi atskirose grupėse tarp gryno homogenato ir homogenato inkubuoto kaštono žiedų tinkūra pogrupių. (•) - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su kontrolinės AA grupės atitinkamais pogrupiais.

KAT aktyvumas skrandžio audinio homogenatuose buvo mažesnis visose trijose bandomosiose grupėse ir skyrėsi nuo sveikų gyvūnų grupės ($P < 0,002-0,001$). Inkubavus homogenatus kaštono žiedų tinktūra, reikšmingas KAT aktyvumo sumažėjimas aptiktas tik II ($P < 0,001$) ir III ($P < 0,002$) grupėse. AA grupėje jis buvo tik 4,5% mažesnis negu sveikų gyvūnų. Lyginant inkubuotus ir neinkubuotus homogenatus, KAT aktyvumas pastaruosiuose buvo 1,8, 1,6 karto didesnis II ir III grupėse ($P < 0,001$) ir 1,3 karto - I ir sveikų gyvūnų grupėje ($P < 0,001$). Reikšmingi skirtumai gauti ir lyginant pirmąsias dvi (II ir III) grupes su AA kontrole (žr. 12 lentelę). Gyvūnams su AA ir eksperimentine opalige (II gr.) KAT aktyvumas homogenatuose, inkubuotuose kaštono žiedų tinktūra, buvo 37,2% mažesnis negu AA grupėje ($P < 0,001$), tuo tarpu kai III grupės gyvūnams (AA, eksperimentinė opaligė ir kaštono žiedų tinktūra) šio fermento aktyvumas sumažėjo 27,5%.

Nors ir neaptikta statistiškai reikšmingų skirtumų tarp II ir III grupės gyvūnų, tačiau III grupėje KAT aktyvumas buvo 15,5% didesnis negu II grupėje, t.y. gydymas ir inkubacija kaštono žiedų tinktūra sustiprino šio fermento aktyvumą.

Tiriant SOD aktyvumą, neaptikta reikšmingų skirtumų nei tarp pačių tiriamųjų grupių, nei lyginant su sveikais gyvūnais. Pastariesiems, skrandžio audinio homogenatuose, inkubuotuose kaštono žiedų tinktūra, SOD aktyvumas padidėjo 17,8%, lyginant su homogenatais be inkubacijos (skirtumas tarp šių pogrupių artimas statistiškai reikšmingam; $t = 2,04$). Žiurkių su AA ir eksperimentine opalige grupėje, skrandžio audinio homogenatų inkubacija šia tinktūra padidino SOD aktyvumą 15,4%.

AOA visų bandomųjų grupių skrandžio audinio homogenatuose buvo didesnis nei sveikų žiurkių grupėje, tačiau reikšmingų skirtumų tarp grupių neaptikta.

Homogenatų inkubacija kaštono žiedų tinktūra neturėjo reikšmingos įtakos pro/antioksidaciniams rodikliams ir tik sveikų gyvūnų grupėje ji 1,76 karto padidino AOA ($P < 0,002$).

Taigi, vertinant skrandžio audinio homogenatų inkubaciją kaštono žiedų tinktūra, ryškiausi pokyčiai aptikti tiriant KAT kiekį, kuris reikšmingai mažėjo.

4.2. KLINIKINIAI TYRIMAI

4.2.1. Trumpa pacientų klinikinė charakteristika

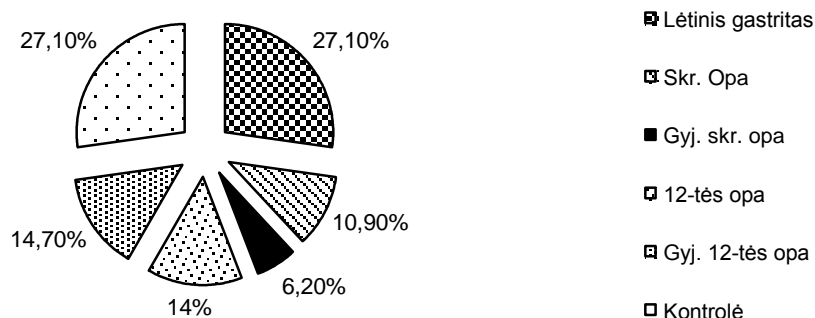
Į tyrimą įtraukti 129 ligoniai, sergantys eritemine gastropatija, skrandžio ir dvylikapirštės žarnos opalige ūmioje ir gijimo stadijose ir besiskundžiantys sutrikimais, būdingais gastrooduodeninės srities patologijai. Ligonų amžiaus vidurkis pateiktas 1 lentelėje, iš kurios matosi, jog jis yra didžiausias sergantiems eritemine gastropatija ir skrandžio opa ir statistiškai reikšmingai skiriasi nuo kitų amžiaus grupių ($P < 0,05$).

13 lentelė. Ligonų amžiaus vidurkis ($M \pm SD$)

	Kontrolė (n=35)	Eritem. gastropatija (n=35)	Skrandžio opa (n=14)	Gyjanti skrandžio opa, (n=8)	12-tės žarnos opa (n=18)	Gyj. 12-tės žarnos opa, (n=19)
Amžiaus vidurkis	47,6±2,54	55,5±2,25*	56,7±3,30*	45,6±4,09	40,9±3,89	47,4±2,88

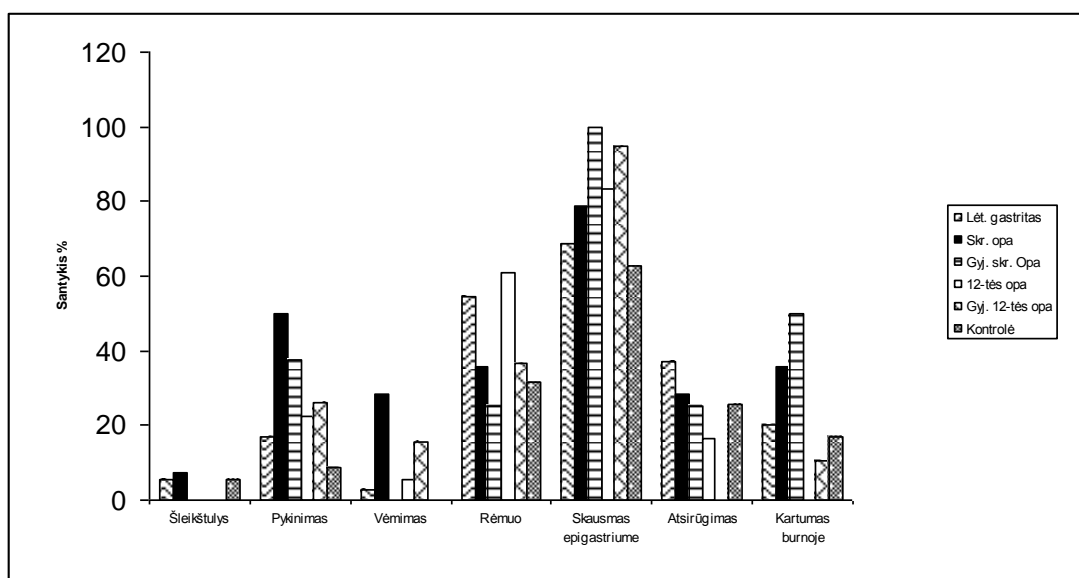
Pastaba: * - skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su kontroline grupe.

Ištyrus 129 ligonius su įvairiais dispepsijos skundais, bei remiantis endoskopijos ir histologijos duomenimis, 35 ligoniams nustatytas lėtinis gastritas, 14 - skrandžio opa, 8 - skrandžio opa gijimo stadijoje, 18 - dvylikapirštės žarnos opa, 19 - dvylikapirštės žarnos opa gijimo stadijoje. 35 asmenys, vizualiai nenustačius patologijos, sudarė kontrolinę grupę. Tirtų ligonių patologijos dažnis procentais pateiktas 6 paveiksle.



6 pav. Tirtų ligonių gastroduodeninės zonos patologijos dažnis (%)

Būdingų skundų dažnis tirtų ligonių grupėse pateiktas 7 paveiksle.



7 pav. Nusiskundimai sergančiųjų grupėse

Pagal skundų dažnį kiekvienos gastroduodeninės zonos patologijos metu, nustatyti panašūs dėsniumai. Visose grupėse ligoniams dominavo skausmas epigastriume, rėmuo, pykinimas. Sergant lėtiniu gastritu, dažniausiai buvo jaučiamas skausmas (68,6%), kamavo rėmuo (54,3%). Sergant skrandžio opa dažniausiai jaučiamas skausmas epigastriume (78,6%), pykinimas (50,0%). Gyjant skrandžio opai, ligoniai skundėsi neintensyviu skausmu

epigastriume (100%), rečiau kartumu burnoje (50 %), kiti skundai vargino mažiau. Sergant dvylikapirštės žarnos opa 83,3% ligonių skundėsi skausmu epigastriume, 61,1% rėmeniui. Gyjant dvylikapirštės žarnos opai, ligoniams išliko skausmas epigastriume (94,7%), kiti skundai retėjo.

4.2.2. Histologinių pokyčių charakteristika skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinėje ligoniams, sergantiems gastroduodeninės srities ligomis

Tiriant patomorfologinius pokyčius skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės biosinėje medžiagoje, galima pastebėti, kad jie priklauso nuo gastroduodeninės patologijos ir skiriasi nuo pokyčių kontrolinėje grupėje.

14 lentelė. Patomorfologiniai pokyčiai skrandžio gleivinėje

Morfologiniai pokyčiai			Gastralinė patologija			Kontrolė (n=35)
			Lėtinis gastritas (n=35)	Skrandžio opa (n=14)	Gyjanti skrandžio opa (n=8)	
Skrandis	<i>Tunica propria</i>	MMN	1,00±0,13* P<0,02	1,00±0,13	1,00±0,16	0,70±0,11
		PMN	0,77±0,13* P<0,04	1,04±0,12* P<0,001	1,19±0,25* P<0,02	0,43±0,10
	Liaukos epitelis	MMN	0,46±0,09	0,75±0,09* P<0,001	0,56±0,17	0,26±0,08
		PMN	0,40±0,09	0,68±0,13* P<0,01	0,75±0,25	0,26±0,07
	Uždegimo aktyvumas		1,11±0,17	1,93±0,13* P<0,0001	1,50±0,27* P<0,03	0,73±0,15
	Infekuotumas <i>H. pylori</i>		1,01±0,14	2,21±0,21* P<0,0001	0,75±0,25+ P<0,0001	0,73±0,14
Dvylikapirštė žarna	Gaureliai	Nepakitę ^{n/n} %	32/35 91,43%	13/14 92,86%	8/8 100%	35/35 100%
		Pakitę ^{n/n} %	3/35 8,6%	1/14 7,14%	-	-
	<i>Lamina propria</i> uždegiminė infiltracija	MMN	0,51±0,08	0,61±0,16	0,88±0,40	0,53±0,09
		PMN	0,16±0,04	0,18±0,07	0,69±0,31	0,18±0,05
	Epitelio uždegiminė infiltracija	MMN	0,16±0,04	0,18±0,07	0,50±0,25	0,13±0,04
		PMN	0,04±0,02	0,04±0,04	0,44±0,26	0±0,00
	Uždegimo aktyvumas		0,07±0,04* P<0,05	0,14±0,14	0,50±0,33	0±0,00

Pastaba: MMN – monomorfonuklearai, PMN – polimorfonuklearai. n/n - skaičius dešinėje – bendras tirtų pavyzdžių skaičius, kairėje – pavyzdžių be jokių pokyčių ar su pokyčiais skaičius; % - ligonių be jokių pokyčių ar su pokyčiais procentas. * - skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su kontrole. + - skirtumai statistiškai reikšmingi tarp skrandžio opa sergančių ligonių grupių (skrandžio opa ir gyjanti skrandžio opa).

Lyginant su kontrole, ligoniams, sergantiems lėtiniu gastritu (14 lentelė), statistiškai reikšmingai padidėja uždegiminė *tunica propria* infiltracija monomorfonuklearais (MMN) ir polimorfonuklearais (PMN) ($P < 0,02-0,04$). Liaukinio epitelio infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis, uždegimo aktyvumas ir infekuotumas *H. pylori*, nors ir yra didesni negu kontrolinėje skrandžio gleivinėje, tačiau reikšmingų skirtumų tarp grupių nėra. Ryški *tunica propria* infiltracija PMN ir leukinio epitelio MMN ir PMN rasta ligoniams, sergantiems skrandžio opa ($P < 0,01-0,001$). Šioje grupėje uždegimo aktyvumas buvo didžiausias ir 2,6 karto viršijo kontrolinės grupės skrandžio gleivinėje stebimą aktyvumą ($P < 0,0001$), o infekuotumas *H. pylori*, viršijo kontrolę 3 kartus ($P < 0,001$).

Esant opai gijimo stadijoje, uždegimo aktyvumas mažesnis 22%, o infekuotumas *H. pylori* beveik 3 kartus ($P < 0,0001$).

Dvylikapirštės žarnos opalige sergantiems ligoniams (15 lentelė) skrandžio gleivinės *tunica propria* infiltracija MMN ir PMN buvo didžiausia, lyginant su ligonių, sergančių kitomis gastroduodeninės zonos ligomis ir 2-3 kartus viršijo normalioje kontrolinėje gleivinėje aptinkamus pokyčius ($P < 0,0001$). Skrandžio liaukinis epitelis esant šiai patologijai taip pat buvo stipriai infiltruojamas uždegiminėmis ląstelėmis ($P < 0,001$). Uždegimo aktyvumas skrandžio gleivinėje ir infekuotumas *H. pylori* buvo padidėjęs virš 2 kartų ($P < 0,001-0,0001$).

Esant dvylikapirštės žarnos opai gijimo stadijoje, uždegiminiai rodikliai skrandžio gleivinėje nežymiai pasikeičia palyginus su ūmia opa: 10-12% sumažėjusi *tunica propria* infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis ir 19-20% padidėjusi liaukinio epitelio infiltracija. Skrandžio gleivinės infekuotumas *H. pylori*, gyjant dvylikapirštės žarnos opai mažesnis 13%.

Sergant lėtiniu gastritu, stebimi nežymūs dvylikapirštės žarnos gleivinės histologiniai pokyčiai, lyginant su kontrole. Aptinkamas tik nedidelio laipsnio uždegimas ($P < 0,05$) ir 8,6% pakitę gaureliai (5,7% - sutrumpėję; 2,9% - sustorėję).

15 lentelė. Patomorfoliginiai pokyčiai dvylikapirštės žarnos gleivinėje.

Morfoliginiai pokyčiai		Duodeninė patologija		Kontrolė (n=35)	
		12-pirštės žarnos opa (n=18)	Gyjanti 12-pirštės žarnos opa (n=19)		
Skrandis	<i>Tunica propria</i>	MMN	1,64±0,15* P<0,0001	1,47±0,13* P<0,0001	0,70±0,11
		PMN	1,47±0,17* P<0,0001	0,29±0,16* P<0,0001	0,43±0,10
	Liaukos epitelis	MMN	0,72±0,10* P<0,001	0,87±0,11* P<0,0001	0,26±0,08
		PMN	0,69±0,09* P<0,001	0,82±0,11* P<0,0001	0,26±0,07
	Uždegimo aktyvumas		1,78±0,17* P<0,0001	1,89±0,18* P<0,0001	0,73±0,15
	Infekuotumas <i>H.pylori</i>		1,67±0,23* P<0,001	1,45±0,20* P<0,005	0,73±0,14
Dvylikapirštė žarna	Gaureliai	Nepakitę ^{n/n} %	5/8 27,8%	10/19 52,6%	35/35 100%
		Pakitę ^{n/n} %	13/18 72,2%	9/19 47,34%	-
	<i>Lamina propria</i> uždegiminė infiltracija	MMN	1,67±0,18* P<0,0001	1,58±0,16* P<0,001	0,53±0,09
		PMN	1,47±0,20* P<0,0001	1,11±0,18* P<0,0001	0,18±0,05
	Epitelio uždegiminė infiltracija	MMN	0,86±0,13* P<0,0001	0,89±0,15* P<0,0001	0,13±0,04
		PMN	0,67±0,16* P<0,001	0,63±0,18* P<0,003	0±0,00
	Uždegimo aktyvumas		1,47±0,15* P<0,0001	0,95±0,22* P<0,0001	0±0,00

Pastaba: MMN – monomorfonuklearai, PMN – polimorfonuklearai. n/n - skaičius dešinėje – bendras tirtų pavyzdžių skaičius, kairėje – pavyzdžių be jokių pokyčių ar su pokyčiais skaičius; % - ligonių be jokių pokyčių ar su pokyčiais procentas. * - skirtumai statistškai reikšmingi lyginant su kontrole.

Ligoniams, sergantiems skrandžio opa ir pastarajai gyjant, taip pat nerandama reikšmingų skirtumų lyginant su kontrole, nors ir stebima didesnė *lamina propria* ir epitelio uždegiminė infiltracija.

Sergant dvylikapirštės žarnos opa, pokyčiai jos gleivinėje didžiausi. Net 72,2% ligonių pakitę gaureliai, kurie 50% sustorėję ir 22,2% - sutrumpėję. Reikšmingai padidėjusi *lamina propria* ir epitelio infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis (P < 0,01-0,0001). Esant opai gijimo stadijoje, mažėja histologiniai pokyčiai dvylikapirštės žarnos gleivinėje, tačiau jie išlieka reikšmingai didesni, lyginant su kontrole (P < 0,003-0,0001).

4.2.3. Biopsinės medžiagos iš skrandžio gleivinės infekuotumas *Helicobacter pylori* bakterijomis

Kaip matome 16 lentelėje, didžiausias infekuotumas rastas ligoniams, sergantiems skrandžio opa. 42,9% ir 35,7% ligonių skrandžio gleivinės biopsinės medžiagos foveolių paviršius gausiai (3+) ir vidutiniškai (2+) kolonizuotas *H. pylori*. Esant gyjančiai skrandžio opai, *H. pylori* infekcijos nerasta 37,5% asmenų, o negausus infekuotumas (1+) stebėtas 50% ligonių.

Sergant dvylikapirštės žarnos opalige, 33% ligonių skrandžio gleivinėje nustatyta negausi ar vidutinio laipsnio *H. pylori* infekcija, o gausus infekuotumas aptiktas 22% asmenų. Esant gyjančiai dvylikapirštės žarnos opai, vidutinio laipsnio infekuotumas skrandžio gleivinėje randamas 52,6% ligonių, tuo tarpu kai gausus infekuotumas mažas ir aptinkamas tik 5% asmenų.

Reikia pažymėti, kad ir esant nepakitusiai gleivinei, 34,3% asmenų stebimas negausus infekuotumas *H. pylori*.

16 lentelė. Biopsinės medžiagos iš skrandžio gleivinės infekuotumas *Helicobacter pylori* esant įvairiai gastroduodeninės srities patologijai

Patologija	<i>Helicobacter pylori</i> infekuotumas			
	nėra	Negausus (+)	Vidutinis (++)	Gausus (+++)
Lėtinis gastritas	35/9 25,7%	35/18 51,45%	35/6 17,14%	35/2 5,71%
Skrandžio opa	14/0	14/3 21,43%	14/5 35,7%	14/6 42,86%
Gyjanti skrandžio opa	8/3 37,5%	8/4 50%	8/1 12,5%	8/0
Dvylikapirštės žarnos opa	18/2 11,1%	18/6 33,3%	18/6 33,3%	18/4 22,22%
Gyjanti dvylikapirštės žarnos opa	19/3 15,8%	19/5 26,31%	19/10 52,6%	19/1 5,26%
Nepakitusi gleivinė	35/16 45,7%	35/13 37,15%	35/5 14,3%	35/1 2,86%

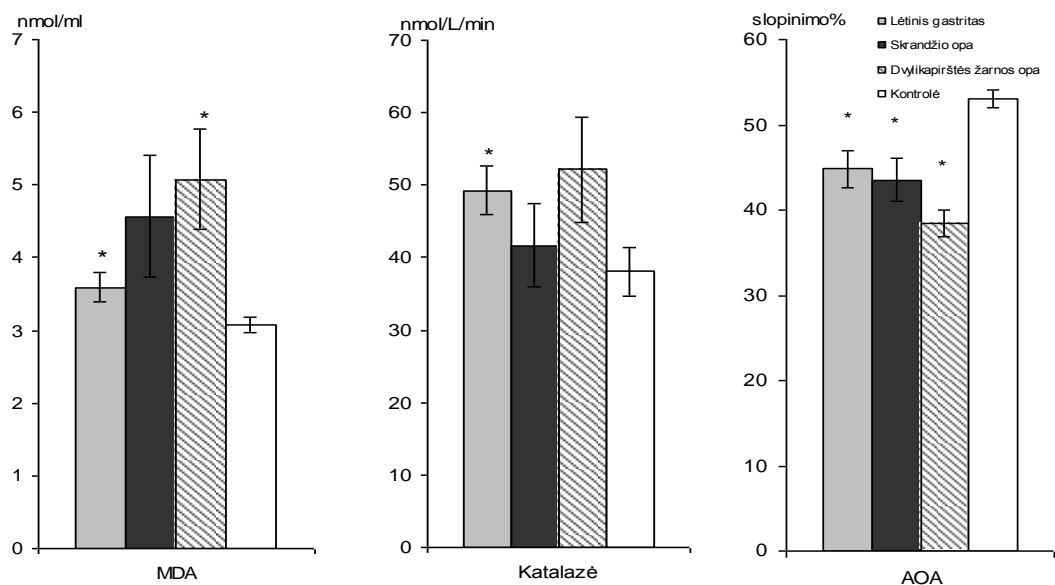
Pastaba: Skaičius kairėje – bendras tirtų pavyzdžių skaičius, dešinėje – pavyzdžių su aptikta *H. pylori* infekcija skaičius. Skaičius apačioje – procentinė *H. pylori* infekuotumo išraiška.

4.2.4. Pro/antioksidacinės sistemos pokyčiai kraujo serume, sergant gastroduodeninės srities ligomis

Kraujo serumo pro/antioksidacinės sistemos rodikliai sergantiems gastroduodeninės srities ligomis pateikti 8 paveiksle. Ryškiausias ir statistiškai reikšmingas MDA padidėjimas, 64,9% viršijantis sveikų asmenų lygį, rastas sergantiems dvylikapirštės žarnos opalige ($P < 0,01$). Ligoniams, kenčiantiems nuo skrandžio opos, MDA taip pat buvo 48,4% didesnis nei kontrolinės grupės asmenims, tačiau reikšmingi skirtumai tarp šių grupių neaptikti. Didesnis MDA kiekis rastas ir sergantiems lėtiniu gastritu ($P < 0,03$), nors jis tik 16,5% viršijo kontrolės MDA kiekį.

KAT aktyvumas kraujo serume padidėjo, sergant gastroduodeninės srities ligomis. Nors ryškiausiai jis išaugo ligoniams, sergantiems dvylikapirštės žarnos opalige (net 36,9%, lyginant su kontroline grupe), tačiau statistiškai reikšmingas padidėjimas rastas tik sergančiųjų lėtiniu gastritu ligonių grupėje ($P < 0,02$), kur jis padidėjo 29,4%.

AOA buvo didžiausias kontrolinių asmenų grupėje, o sergant gastroduodeninės srities ligomis šis aktyvumas statistiškai reikšmingai mažėjo visose pacientų grupėse ($P < 0,003-0,0001$). Ryškiausias 27,5% AOA sumažėjimas rastas ligoniams, sergantiems dvylikapirštės žarnos opalige ($P < 0,0001$).



8 pav. Kraujo serumo pro/antioksidacinės sistemos rodikliai ligonių, sergančių gastroduodeninės srities ligomis

MDA – maloninis dialdehidai, AOA - antioksidantinis aktyvumas.

* - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su kontroline sveikų asmenų grupe.

Pro/antioksidacinės sistemos rodiklių kitimas gyjant skrandžio opai pateiktas 17 lentelėje, iš kurios matosi, kad nors ir nerasta reikšmingų skirtumų tarp gyjančios ir negyjančios skrandžio opos, MDA kiekis gyjant opai sumažėjęs 31,3%, o AOA padidėjęs 9,4%. 9,6% padidėjęs KAT aktyvumas ligoniams sergantiems skrandžio opa, jai gyjant sumažėjęs 5,1% ir beveik nesiskyrė nuo kontrolės. Reikia pažymėti, kad visi tirti rodikliai, gyjant opoms, artėjo prie kontrolinės grupės lygio.

17 lentelė. Kraujo serumo pro/antioksidacinės sistemos rodikliai ligoniams, sergantiems skrandžio opa

Grupės	n	Rodiklis		
		MDA (nmol/mg)	Katalazė (nmol/l/min)	AOA (slopinimo %)
Skrandžio opa	14	4,57±0,83	41,71±5,82	44,83±2,16* P < 0,0001
Gyjanti skrandžio opa	8	3,14±0,34	39,59±11,04	47,65±3,49
Kontrolinė grupė	35	3,08±0,11	38,07±3,33	53,06±1,01

Pastaba: * - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su kontroline grupe.

Panašus vaizdas stebimas ir tiriant ligonius su gyjančia dvylikapirštės žarnos opa (18 lentelė). Lyginant su ligoniais, sergančiais dvylikapirštės žarnos opa, jai gyjant statistiškai reikšmingai mažėjo MDA kiekis (P < 0,03), KAT aktyvumas (P < 0,006), bei didėjo AOA (P < 0,005). Jei MDA ir AOA rodikliai artėjo prie kontrolinės grupės lygio, tai KAT aktyvumas buvo 24,3% mažesnis nei kontrolėje grupėje ir 44,7% mažesnis už sergančių dvylikapirštės žarnos opalige, ko nestebėta gyjančios skrandžio opos atveju.

18 lentelė. Kraujo serumo pro/antioksidacinės sistemos rodikliai ligoniams sergantiems dvylikapirštės žarnos opa

Grupės	n	Rodiklis		
		MDA (nmol/mg)	Katalazė (nmol/l/min)	AOA (slopinimo %)
Dvylikapirštės žarnos opa	18	5,08±0,68* P < 0,01	52,13±7,26	38,47±1,57* P < 0,001
Gyjanti dvylikapirštės žarnos opa	18	3,34±0,35 ⁺ P < 0,03	28,81±2,33 ⁺ P < 0,006	47,40±2,45 ⁺ P < 0,005
Kontrolinė grupė	35	3,08±0,11	38,07±3,33	53,06±1,01

Pastaba: * - skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su kontroline grupe. ⁺ - skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su ligonių, sergančių dvylikapirštės žarnos opa, grupe.

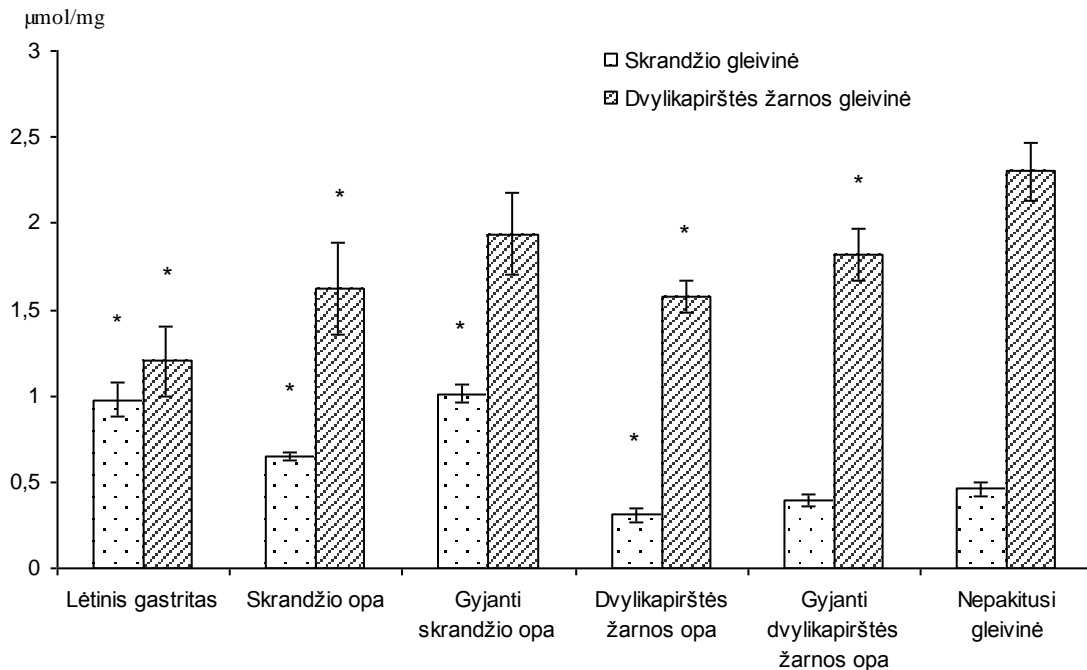
4.2.5. Reaktyvūs deguonies junginiai gastroduodeninės srities gleivinės audinyje.

Vandenilio peroksido (H_2O_2) kiekis ($\mu\text{mol}/\text{mg}$) gleivinės audinyje, sergant gastroduodeninės srities ligomis, pateiktas 9 pav. Reikia pažymėti, jog nepakitusioje skrandžio gleivinėje H_2O_2 kiekis 5 kartus mažesnis nei dvylikapirštės žarnos gleivinėje. Lėtinio gastrito ir gyjančios skrandžio opos atvejais H_2O_2 kiekis skrandžio gleivinės biopstatuose padidėjo daugiau kaip 2 kartus ir buvo statistiškai reikšmingas ($P < 0,0001$), lyginant su kontrole. Skrandžio opos metu H_2O_2 kiekis biopstatuose reikšmingai išaugo 40,4% ($P < 0,0001$).

Dvylikapirštės žarnos patologijos atveju, H_2O_2 kiekis skrandžio gleivinėje buvo mažesnis, lyginant su jo kiekiu normalioje kontrolinės grupės gleivinėje. Reikšmingas H_2O_2 sumažėjimas (33%; $P < 0,015$) stebimas sergant ūmios fazės dvylikapirštės žarnos opa. Gyjančios opos atveju šis sumažėjimas siekia tik 14,8%. Patologinis procesas, besivystantis skrandžio gleivinėje, keičia oksidacinių reakcijų intensyvumą ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinyje. Tiek lėtinio gastrito, tiek ir skrandžio opaligės metu dvylikapirštės žarnos gleivinėje stebimas reikšmingas H_2O_2 kiekio sumažėjimas atitinkamai 47,8% ($P < 0,0001$) ir 29,4% ($P < 0,045$) nesant jokių matomų histopatologinių pokyčių joje.

Gyjančios skrandžio opos atveju rastas nereikšmingas H_2O_2 kiekio sumažėjimas, iki 15,8%.

Taigi, patologinis procesas dvylikapirštės žarnos gleivinėje reikšmingai sumažina oksidacinių reakcijų intensyvumą. Esant ūmiai dvylikapirštės žarnos opai šis sumažėjimas siekia 31,6% ($P < 0,001$), o jai gyjant H_2O_2 kiekis sumažėja 20,9% ($P < 0,04$).



9 pav. Vandenilio peroksido kiekis (µmol/mg) skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinyje sergant gastroduodeninės srities ligomis

* - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su nepakitusia skrandžio gleivine.

Mes palyginome, H_2O_2 kiekio kitimus skrandžio gleivinėje priklausomai nuo *H. pylori* infekotumo (19 lentelė). Iš 19 ligonių, sergančių lėtiniu gastritu, *H. pylori* infekotumas skrandžio gleivinės biopatuose rastas 63,2 %, o 36,8 % - jo neaptikta. 12 ligonių su skrandžio opa, skrandžio gleivinės mėginiuose rastas 100% infekotumas *H. pylori*. Opai gyjant infekotų pavyzdžių sumažėjo iki 62,5 %, o *H. pylori* infekcija išnyko 37,5 % ligonių.

Ištyrus 16 ligonių, sergančių dvylikapirštės žarnos opalige, 87,5 % pacientų skrandžio gleivinės biopsinėje medžiagoje rastas *H. pylori* infekotumas ir tik 12,5 % jo neaptikta. Gyjant dvylikapirštės žarnos opai, skrandžio gleivinės infekotumas *H. pylori* rastas 82,4 %, t.y., nežymiai sumažėjo. Reikia pažymėti, kad ir kontrolinės grupės pavyzdžiuose infekotumas *H. pylori* siekė 45 %.

Neinfekuotuose *H. pylori* skrandžio gleivinės pavyzdžiuose, H_2O_2 kiekis ligoniams su gyjančia skrandžio opa reikšmingai padidėjo ($P < 0,003$) ir viršijo kontrolinės grupės lygį 2,4 kartus. Lėtinio gastrito atveju

H₂O₂ kiekis išaugo 72,7 %. Sergant lėtiniu gastritu ir gyjančia skrandžio opa, H₂O₂ kiekis infekuotuose *H. pylori* skrandžio gleivinės pavyzdžiuose padidėjo beveik 2 kartus, lyginant su kontrole (P < 0,005; P < 0,003). Tuo tarpu, esant dvylikapirštės žarnos patologijai, H₂O₂ skrandžio gleivinėje rasta 47% mažiau, sergant dvylikapirštės žarnos opa, ir 19,6 % mažiau ligoniams su gyjančia dvylikapirštės žarnos opa.

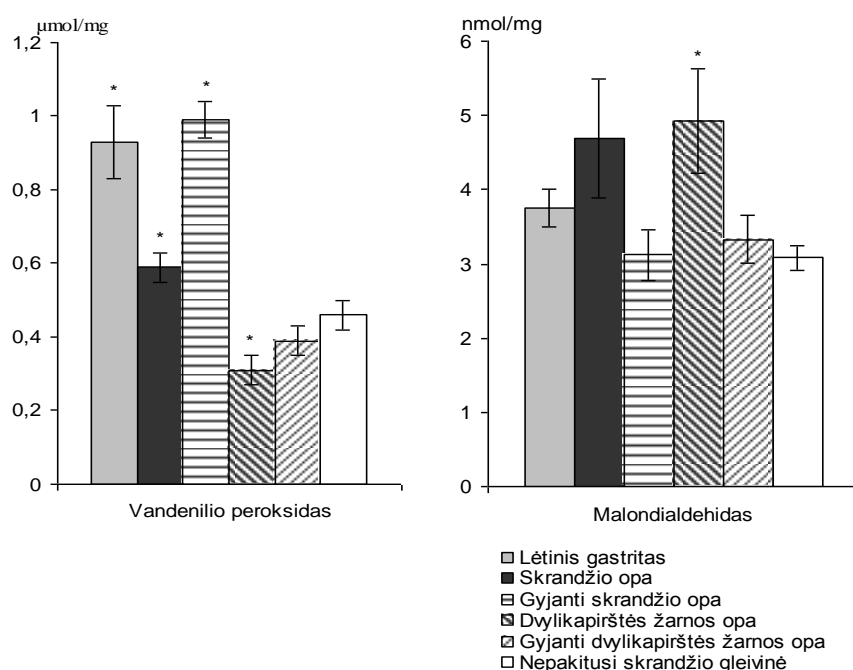
Nors vertinant H₂O₂ kiekį skrandžio gleivinėje įvairių gastroduodeninės srities patologijų atvejais tarp *H. pylori* neigiamų ir *H. pylori* teigiamų grupių statistiškai reikšmingų skirtumų ir neaptikta, tačiau didesni jo kiekiai nustatyti *H. pylori* infekuotiems ligoniams, sergantiems lėtiniu gastritu (padidėjo 36,8 %), skrandžio opa (100%), gyjančia dvylikapirštės žarnos opa (36,7%), bei kontrolinės grupės asmenims, kur padidėjimas siekė 15,9 %.

19 lentelė. Vandenilio peroksido kiekis skrandžio gleivinėje gastroduodeninės patologijos atvejais priklausomai nuo *H. pylori* infekuotumo

Patologija	Vandenilio peroksido kiekis (μmol/mg)				
	n/n	%	<i>H. pylori</i> neigiama	n/n	<i>H. pylori</i> teigiama
Lėtinis gastritas	19/7	36,8	0,76±0,08* P < 0,006	19/12	1,04±0,15* P < 0,005
Skrandžio opa	12/0	0	-	12/12	0,59±0,04
Gyjanti skrandžio opa	8/3	37,5	1,05±0,07* P < 0,003	8/5	0,97±0,06* P < 0,003
Dvylikapirštės žarnos opa	16/2	12,5	0,56±0,13	16/14	0,27±0,04* P < 0,008
Gyjanti dvylikapirštės žarnos opa	17/3	17,6	0,30±0,05	17/14	0,41±0,04
Kontrolė	20/11	55	0,44±0,04	20/9	0,51±0,06

Pastaba: n/n - skaičius kairėje – bendras tirtų pavyzdžių skaičius, dešinėje – pavyzdžių neužkrėtų *H. pylori* ar infekuotų ja skaičius. % - ligonių su pokyčiais procentas. * - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su kontroline grupe.

10 pav. palyginome MDA kiekius kraujo serume su H₂O₂ kiekiais skrandžio gleivinėje, sergant gastroduodeninės srities ligomis. Nors oksidacinių procesų suintensyvėjimas palyginus su kontrole stebėtas tiek kraujyje, tiek skrandžio gleivinėje, sergant lėtiniu gastritu ir skrandžio opa, tačiau jų reikšmingumas nevienodas. MDA kiekis kraujo serume buvo 21,8% ir 52,3% didesnis šių patologijų metu, nors reikšmingų skirtumų, palyginus su kontrole, neaptikome. Tuo tarpu sergant gastritu, H₂O₂ kiekis skrandžio gleivinėje statistiškai reikšmingai padidėjo virš 2 kartų (P < 0,006), o skrandžio opos metu 28,3% (P < 0,001). Jei gyjant skrandžio opai MDA kiekis kraujyje sumažėjo ir nesiskyrė nuo kontrolės, tai H₂O₂ kiekis skrandžio gleivinėje viršijo ją du kartus (P < 0,0001). Sergant dvylikapirštės žarnos opa, stebėjome reikšmingą MDA kiekio kraujo serume padidėjimą 60% (P < 0,03), tuo metu kai H₂O₂ kiekis skrandžio gleivinėje sumažėjo 32,6% (P < 0,001). Gyjant pastarajai, neaptikta reikšmingų pokyčių tiek matuojant MDA kiekį kraujo serume, tiek ir H₂O₂ kiekį gleivinėje. Pirmasis tik 8% viršijo kontrolę, o antrasis buvo 15,2% už ją mažesnis.



10 pav. Maloninio dialdehido (MDA) kiekis kraujo serume ir vandenilio peroksido kiekis skrandžio gleivinėje sergant gastroduodeninės srities ligomis

* Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su kontroline grupe.

4.2.6. Pelkinės vingiorykštės ir kaštonų žiedų tinktūrų poveikis skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės oksidacinei sistemai sergant gastroduodeninės srities ligomis

4.2.6.1. 40° etanolio poveikis skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės oksidacinei sistemai, sergant gastroduodeninės srities ligomis

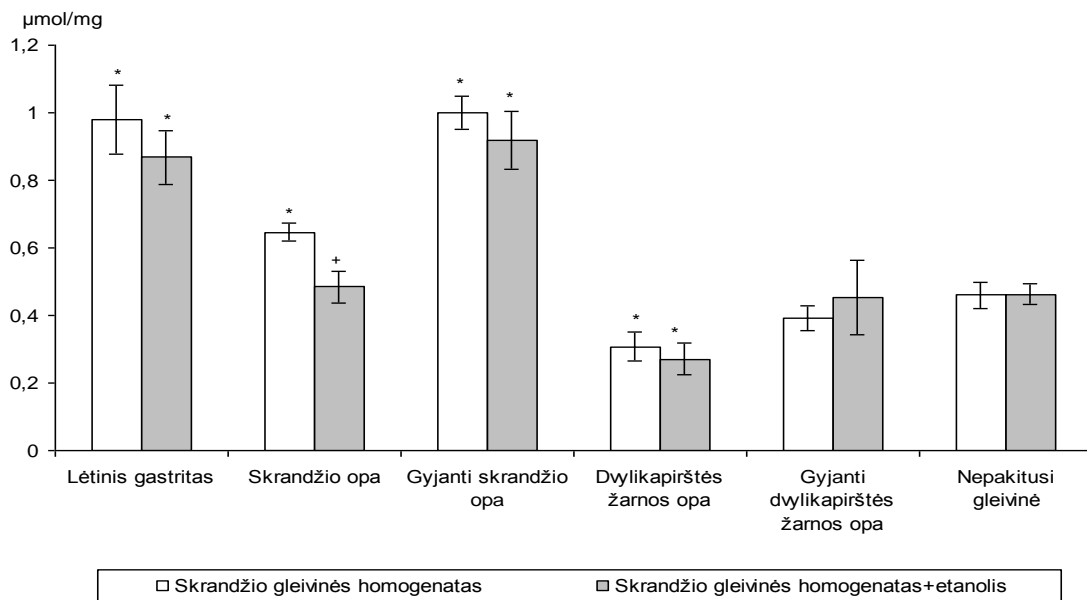
Kadangi tinktūrų gamybai buvo naudojamas 40° etanolis, ištyrėme, kokią įtaką šio tirpiklio panaudojimas turi H₂O₂ kiekiui skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose.

Kaip matosi iš pateikto 11 pav., skrandžio gleivinės audinio homogenatuose, lyginant su nepakitusia gleivine, aptikome statistiškai reikšmingą H₂O₂ kiekio padidėjimą ligoniams, sergantiems lėtiniu gastritu, skrandžio opa ir gyjant skrandžio opai (P < 0,001-0,0001), bei sumažėjimą, sergantiems dvylikapirštės žarnos opalige (P < 0,01).

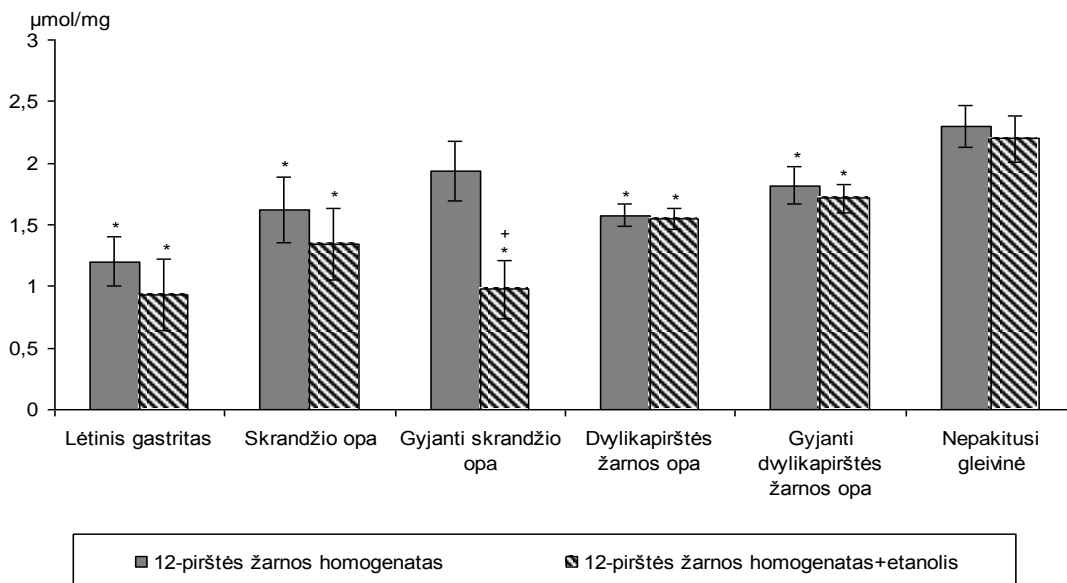
Etanolio tirpalas neturėjo reikšmingos įtakos H₂O₂ kiekiui skrandžio gleivinės homogenatuose, sergant visomis tirtomis ligomis, išskyrus ligonius, sergančius skrandžio opa, kurių homogenatuose etanolis reikšmingai sumažino H₂O₂ kiekį (P < 0,01).

Dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose, tiek grynuose, tiek ir su etilo alkoholiu, aptikome reikšmingai mažesnę H₂O₂ kiekį visose tirtose ligonių grupėse (P < 0,05-0,001), lyginant su nepakitusia gleivine. Reikšmingas skirtumas tarp H₂O₂ kiekio gryname homogenate ir homogenate su etanoliu rastas tik ligoniams su gyjančia skrandžio opa (P < 0,02), kur etanolis sumažino H₂O₂ kiekį 49,7%.

Vandenilio peroksido kiekis skrandžio gleivinės audinyje



Vandenilio peroksido kiekis dvylikapirštės žarnos gleivinės audinyje



11 pav. 40° etanolio poveikis vandenilio peroksido kiekiui skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinyje ligoniams, sergantiems gastroduodeninės srities ligomis.

5% skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatai pagaminti santykiu 1:19; viena dalis audinio ir devyniolika dalių buferinio tirpalo. (*) - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su normalaus audinio gleivine. (+) – Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su grupe be etanolio tirpalo.

4.2.6.2. Pelkinės vingiorykštės ir kaštono žiedų tinkūrų poveikis skrandžio gleivinės oksidacinei sistemai sergantiems gastroduodeninės srities ligomis

Visų grupių pacientams, sergantiems gastroduodeninės srities ligomis, H₂O₂ kiekis skrandžio gleivinės audinio homogenatuose sumažėjo po jų inkubacijos vingiorykštės žiedų tinkūra (20 lentelė). Tik ligoniams su gyjančia dvylikapirštės žarnos opa jis buvo 19,9% didesnis. Statistiškai reikšmingas H₂O₂ sumažėjimas po homogenatų inkubacijos vingiorykštės žiedų tinkūra rastas ligoniams, sergantiems skrandžio opa (P < 0,001) ir gyjančia skrandžio opa (P < 0,05).

20 lentelė. Ligonų, sergančių gastroduodeninės srities ligomis, vandenilio peroksido kiekis skrandžio gleivinės audinyje inkubavus jį vingiorykštės ir kaštono žiedų tinkūromis

Patologija	n	Vandenilio peroksido kiekis (μmol/mg) skrandžio gleivinės audinyje		
		I Skrandžio gleivinės homogenatas	II Skrandžio gleivinės homogenatas + vingiorykštės ž. tinktūra	Skrandžio gleivinės homogenatas + kaštono žiedų tinktūra
Lėtinis gastritas	19	0,978±0,102*	0,789±0,089*	0,835±0,120*
Skrandžio opa	12	0,646±0,026*	+0,420±0,040	0,717±0,079
Gyjanti skrandžio opa	8	1,000±0,050*	+0,755±0,090*	+0,599±0,034
Dvylikapirštės žarnos opa	16	0,308±0,044*	0,258±0,026*	+0,566±0,073
Gyjanti dvylikapirštės žarnos opa	17	0,392±0,036	0,470±0,050	+0,725±0,080
Kontrolė	20	0,460±0,039	0,359±0,040	0,504±0,078

Pastaba: 5% skrandžio audinio gleivinės homogenatas pagamintas santykiu 1:19; viena dalis audinio ir devyniolika dalių buferinio tirpalo. (*) - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su normalia skrandžio audinio gleivine. (+) – Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su I grupe.

Inkubavus skrandžio gleivinės audinio homogenatus kaštono žiedų tinktūra, stebėjome 14,62% H₂O₂ kiekio sumažėjimą ligoniams, sergantiems lėtiniu gastritu ir 40,1% - gyjančia skrandžio opa. H₂O₂ sumažėjimas, gyjant skrandžio opai, inkubuotuose tinktūra homogenatuose buvo ypač ryškus ir statistiškai reikšmingai (P < 0,001) skyrėsi nuo H₂O₂ kiekio neinkubuotuose homogenatuose. Ligoniams, sergantiems skrandžio opa, homogenatų inkubacija kaštono žiedų tinktūra padidino H₂O₂ kiekį 11%, o sergant dvylikapirštės žarnos opalige net 83,76% (P < 0,01). Gyjant dvylikapirštės žarnos opai, skrandžio gleivinės audinio homogenatuose, inkubuotuose kaštono žiedų tinktūra, H₂O₂ kiekis buvo 1,85 karto (84,94%) didesnis ir reikšmingai skyrėsi nuo skrandžio gleivinės audinio homogenato be inkubacijos minėta tinktūra (P < 0,0001).

Palyginus vingiorykštės ir kaštono žiedų tinktūrų poveikį H₂O₂ kiekiui skrandžio gleivinėje, nustatėme, kad ligoniams, sergantiems lėtiniu gastritu, abu augaliniai preparatai tik nežymiai (atitinkamai 14,62% ir 19,32%) sumažina jo kiekį inkubuotuose homogenatuose. Skrandžio opos atveju, tinktūrų poveikis buvo skirtingas: jei vingiorykštės žiedų tinktūra reikšmingai sumažino H₂O₂ kiekį skrandžio gleivinės audinio homogenatuose 34,18%, tai kaštono žiedų tinktūra nežymiai jį padidino. Gyjant skrandžio opai abi tinktūros reikšmingai mažino H₂O₂ kiekį, nors ryškesnis slopinimas iki 40,1% gautas naudojant kaštono žiedų tinktūrą (vingiorykštės žiedų tinktūra mažino H₂O₂ kiekį 24,5%).

Skirtingą tinktūrų poveikį H₂O₂ kiekiui skrandžio audinio homogenatuose gavome ligoniams, sergantiems dvylikapirštės žarnos opa: vingiorykštės žiedų tinktūra 16,2% mažino, o kaštonų žiedų tinktūra reikšmingai didino H₂O₂ kiekį net 83,8%.

Gyjant dvylikapirštės žarnos opai, abi tinktūros pasižymėjo vienu poveikiu skrandžio audinio homogenatuose, didindamos H₂O₂ kiekį juose. Šis H₂O₂ kiekio didėjimas buvo skirtingas: po inkubacijos vingiorykštės žiedų tinktūra jis nereikšmingai išaugo 19,9%, o veikiant kaštono žiedų tinktūrai, statistiškai reikšmingai padidėjo beveik du kartus.

Reikia pažymėti, kad ir homogenatuose, pagamintuose iš normalios skrandžio gleivinės audinio, tinktūrų poveikis H₂O₂ kiekiui buvo skirtingas:

vingiorykštės žiedų tinktura mažino, o kaštono – didino H_2O_2 , tačiau skirtumai buvo nereikšmingi.

4.2.6.3. Pelkinės vingiorykštės ir kaštono žiedų tinktūrų poveikis dvylikapirštės žarnos gleivinės oksidacinei sistemai sergant gastroduodeninės srities ligomis

Dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatų inkubacija vingiorykštės žiedų tinktura ligoniams, sergantiesiems gastroduodeninės srities ligomis, nežymiai mažino H_2O_2 kiekį juose (21 lentelė). Tik sergančiųjų dvylikapirštės žarnos opalige, inkubuotuose homogenatuose, H_2O_2 kiekis beveik nesiskyrė nuo jo kiekio gryname homogenate ir buvo padidėjęs 1,91%. Normalios dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatų inkubacija vingiorykštės žiedų tinktura 21,9% sumažino H_2O_2 kiekį juose ($P < 0,01$).

Po dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatų, gautų iš ligonių, sergančių lėtiniu gastritu, skrandžio opa ir gyjančia skrandžio opa, inkubacijos kaštono žiedų tinktura, H_2O_2 kiekis juose nežymiai sumažėjo (atitinkamai 1%, 10,1% ir 27,5%). Ligoniams su gyjančia skrandžio opa šis sumažėjimas ryškiausias. Panašiai kaštono žiedų tinktura veikė ir normalios dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatus, kur po inkubacijos ja, H_2O_2 kiekis sumažėjo 27,3% ($P < 0,01$).

Esant dvylikapirštės žarnos patologijai, po homogenatų inkubacijos kaštono žiedų tinktura, stebėtas nereikšmingas H_2O_2 kiekio padidėjimas 16,7%, ligoniams, sergantiems dvylikapirštės žarnos opalige, ir 12,3% - ligoniams, sergantiems gyjančia dvylikapirštės žarnos opalige.

21 lentelė. Ligonių, sergančių gastroduodeninės srities ligomis, vandenilio peroksido kiekis dvylikapirštės žarnos gleivinės audinyje inkubavus jį vingiorykštės žiedų tinktura

Patologija	n	Vandenilio peroksido kiekis ($\mu\text{mol}/\text{mg}$) dvylikapirštės žarnos gleivinės audinyje		
		I 12-pirštės žarnos gleivinės homogenatas	II 12-pirštės žarnos gleivinės homogenatas + vingiorykštės ž. tinktūra	III 12-pirštės žarnos gleivinės homogenatas + kaštono žiedų tinktūra
Lėtinis gastritas	19	1,200 \pm 0,200*	1,132 \pm 0,170*	1,188 \pm 0,139*
Skrandžio opa	12	1,623 \pm 0,267*	1,394 \pm 0,230	1,459 \pm 0,188
Gyjanti skrandžio opa	7	1,937 \pm 0,239	1,762 \pm 0,340	1,404 \pm 0,220
12-pirštės žarnos opa	16	1,574 \pm 0,090*	1,604 \pm 0,100	1,837 \pm 0,088
Gyjanti 12-pirštės žarnos opa	18	1,819 \pm 0,147*	1,625 \pm 0,149	2,042 \pm 0,170
Kontrolė	19	2,303 \pm 0,170	⁺ 1,799 \pm 0,179	⁺ 1,674 \pm 0,140

Pastaba: 5% dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatas pagamintas santykiu 1:19: viena dalis audinio ir devyniolika dalių buferinio tirpalo. (*) - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su normalia dvylikapirštės žarnos audinio gleivine. (+) – Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su I grupe.

Sulyginus inkubacijos vingiorykštės ir kaštono žiedų tinktūromis poveikį H_2O_2 kiekiui dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose, matome, kad abi tinktūros veikė vienodai homogenatuose, paimtuose iš ligonių, sergančių lėtiniu gastritu, skrandžio opa, gyjančia skrandžio opa ir dvylikapirštės žarnos opa. Jei pirmųjų trijų patologijų atveju homogenatų inkubacija tinktūromis mažino H_2O_2 kiekį juose, tai dvylikapirštės žarnos opaligės atveju – jį didino. Augalinių tinktūrų poveikio išraiška buvo skirtinga. Vingiorykštės žiedų tinktura ryškiausiai mažino H_2O_2 kiekį dvylikapirštės žarnos gleivinės homogenatuose, ligoniams, sergantiems skrandžio opa ir sveikiems asmenims, atitinkamai 14,1% ir 21,9%, o kaštono žiedų tinktura, homogenatuose iš gyjančios skrandžio opos (sumažėjimas 27,5%) ir sveikų asmenų (sumažėjimas 27,3%) grupių. H_2O_2 kiekis homogenatuose iš ligonių, sergančių dvylikapirštės žarnos opalige, po jų

inkubacijos kaštono žiedų tinktūra padėjo stipriau (16,7%), negu po inkubacijos vingiorykštės žiedų tinktūra (1,91%).

Abi tinktūros skirtingai veikė dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatus iš ligonių, su gyjančia dvylikapirštės žarnos opa: vingiorykštės žiedų tinktūra 10,6% mažino H_2O_2 kiekį, o kaštono žiedų tinktūra – jį didino 12,3%. Tačiau abi tinktūros vienodai veikė dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatus iš kontrolinių asmenų grupės, reikšmingai mažindamos H_2O_2 kiekį juose.

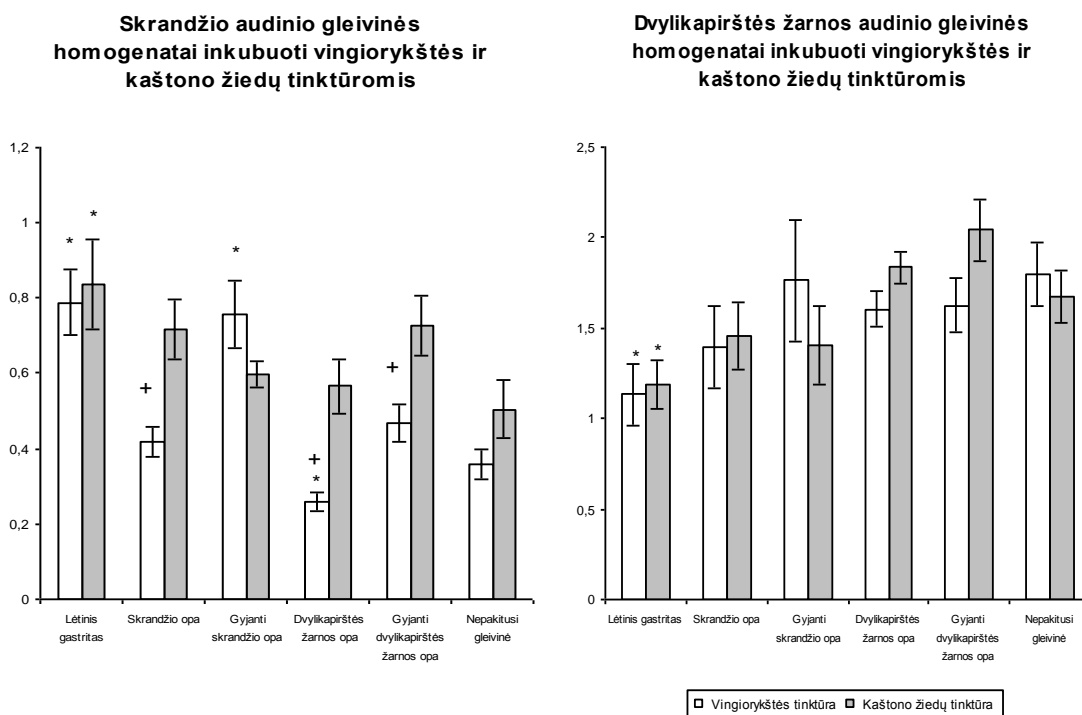
Apibendrinant duomenis, kuriuose palygintas H_2O_2 kiekis ligoniams, sergantiems gastroduodeninės srities ligomis, skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose, inkubuotuose vingiorykštės ir kaštono žiedų tinktūromis (12 pav.), galime konstatuoti, kad vingiorykštės žiedų tinktūra ryškiau negu kaštono žiedų tinktūra veikė H_2O_2 kiekį.

Reikšmingi skirtumai tarp naudotų tinktūrų gauti skrandžio audinio gleivinės homogenatuose iš ligonių, sergančių skrandžio opa ($P < 0,01$), dvylikapirštės žarnos opa (0,001) ir gyjančia skrandžio opa ($P < 0,02$).

Mažesnis H_2O_2 kiekis nustatytas ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose po inkubacijos vingiorykštės žiedų tinktūra, nors reikšmingų skirtumų tarp tinktūrų poveikio neaptikta.

Tik ligoniams su gyjančia skrandžio opa, tiek skrandžio, tiek ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose kaštono žiedų tinktūra stipriau negu vingiorykštės, slopino H_2O_2 kiekį (žr. 12 pav.).

Lyginant H_2O_2 kiekį inkubuotuose augalinėmis tinktūromis homogenatuose su nepakitusios gleivinės H_2O_2 kiekiu, jis statistiškai reikšmingai sumažėjo dvylikapirštės žarnos opa sergančiųjų skrandžio gleivinės audinio homogenatuose, inkubuotuose vingiorykštės žiedų tinktūra, o abi tinktūros statistiškai reikšmingai mažino H_2O_2 kiekį dvylikapirštės žarnos audinio homogenatuose, paimtuose iš ligonių, sergančių lėtiniu gastritu.



12 pav. Ligonių, sergančių gastroduodeninės srities ligomis, H₂O₂ kiekis skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose, inkubavus juos pelkinės vingio rykštės ir kaštono žiedų tinktūromis

5% skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatai pagaminti santykiu 1:19: viena dalis audinio ir devyniolika dalių buferinio tirpalo. (*) - Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su normalia skrandžio ar dvylikapirštės žarnos audinio gleivine. (+) – Skirtumai statistiškai reikšmingi tarp homogenatų inkubuotų skirtingomis tinktūromis.

Apibendrinus rezultatus, gautus tiriant klinikinę medžiagą, rodiklių pokyčiai vizualizuoti 22 ir 23 lentelėse:

22 lentelė. Pro/antioksidacinės sistemos rodiklių pokyčiai sergant gastroduodeninės srities ligomis.

Patologija	Rodikliai			
	MDA (serume)	H ₂ O ₂ (gleivinėje)	KAT (serume)	AOA (serume)
Lėtinis gastritas	↑*	↑↑*	↑*	↓*
Skrandžio opa	↑↑	↑*	↑	↓*
Gyjanti skrandžio opa	↑	↑↑*	↑	↓
Dvylikapirštės žarnos opa	↑↑*	↓*	↑↑	↓↓*
Gyjanti dvylikapirštės žarnos opa	↑	↓	↓*	↓

Pastaba: ↑ - reikšmės padidėjimas, ↓ - reikšmės sumažėjimas, ↑↑ - ryškesnis reikšmės padidėjimas, ↓↓ - ryškesnis reikšmės sumažėjimas. (*) – Skirtumai statistiškai reikšmingi lyginant su kontrolinės grupės reikšmėmis.

Duomenys pateikti 22 lentelėje rodo, kad MDA kiekis kraujo serume ryškiausiai padidėja sergant lėtiniu gastritu ir dvylikapirštės žarnos opalige, o H₂O₂ kiekis sergant lėtiniu gastritu ir gyjančia skrandžio opa. Ryškiausias AOA sumažėjimas rastas sergantiems dvylikapirštės žarnos opa.

23 lentelė. Pelkinės vingiorykštės ir paprastojo kaštono žiedų tinktūrų poveikis vandenilio peroksido kiekiui gastroduodeninės srities gleivinėje.

Patologija	Vandenilio peroksido (H ₂ O ₂) kiekis	
	Vingiorykštės žiedų tinktūra	Kaštono žiedų tinktūra
Lėtinis gastritas	↓	↓
Skrandžio opa	↓*	↑
Gyjanti skrandžio opa	↓*	↓↓*
Dvylikapirštės žarnos opa	↑	↑↑
Gyjanti dvylikapirštės žarnos opa	↓	↑
Kontrolė	↓	↑

Pastaba: ↑- reikšmės padidėjimas, ↓ - reikšmės sumažėjimas, ↑↑- ryškesnis reikšmės padidėjimas, ↓↓- ryškesnis reikšmės sumažėjimas. (*) – Skirtumai statistiškai reikšmingi, lyginant su neinkubuota gleivine.

Vingiorykštės tinktūra (23 lentelė) ryškiausiai mažina H₂O₂ kiekį skrandžio gleivinėje ligoniams sergantiems skrandžio opa ir gyjančia skrandžio opa, o kaštono žiedų tinktūra – ligoniams su gyjančia skrandžio opa.

5. DARBO REZULTATŲ APTARIMAS

Eksperimentiniai ir klinikiniai tyrimai rodo, kad reaktyvios deguonies rūšys (ROS) vaidina svarbų vaidmenį uždegimo ir virškinamojo trakto opaligės etiopatogenezėje [Dengiz ir kt., 2007]. ROS vaidmuo vystantis ūmiems eksperimentiniams skrandžio gleivinės pažeidimams, sukeltiems streso, etanolio ir nesteroidinių vaistų nuo uždegimo, gerai žinomos [Das ir kt., 1997]. Uždegiminės reakcijos, sukeltos indometacinu taip pat svarbus ROS šaltinis skrandžio audinyje [Dengiz ir kt., 2007], o ūmios skrandžio opos, atsirandančios vartojant jį, dideliu laipsniu lemiamos oksidacinio streso [Bandyopadhyay ir kt., 2001; Muresan ir kt., 2008]. Žiurkėms, davus indometacino, atsiranda ūmus skrandžio gleivinės išopėjimas, padidėja lipoperoksidacija, sumažėja SOD aktyvumas [Odobasuglu ir kt., 2006]. Tą patvirtino ir mūsų duomenys, gauti sukeltant opaligę indometacinu. Trys indometacino dozės (dvi po 30 mg/kg ir viena 60 mg/kg) sukėlė opas žiurkių skrandyje, sustiprino uždegiminius pokyčius skrandžio gleivinėje, ryškiai sumažino antioksidacinių fermentų KAT ir SOD aktyvumą bei AOA. Žinoma, kad indometacinas sukelia skrandžio gleivinės kraujotakos sutrikimus, slopina PG sintezę. Po skrandžio gleivinės raumeninio sluoksnio užsitęsusio susitraukimo ir sutrikusios kraujotakos atsiranda atsipalaidavimas ir reperfuzija, kurios metu gaminami laisvieji radikalai, dalyvauja gleivinės pažeidime. [Takeuchi ir kt. 1991].

Po gydymo vingiorykštės tinktūra, kurios sudedamosios dalys, tokios kaip taninai, flavanoidai, spireozidai pasižymi antioksidaciniu poveikiu [Calliste ir kt., 2001; Sroka ir kt., 2001; Maksimovic ir kt., 2007], skrandžio gleivinės pažeidimo indeksas sumažėjo 3%, mažesniai žiurkių skaičiui rastos gleivinės erozijos, pilnakraujystė, infiltracija limfocitais ir ypač neutrofiliniais leukocitais, sustiprėjo kraujo serumo antioksidacinių rodiklių aktyvumas. Nors vingiorykštės tinktūra nežymiai veikė lipidų peroksidacijos galinį produktą MDA ir KAT bei reikšmingai sumažino SOD aktyvumą kraujo serume, tačiau AOA sustiprėjo 36,2%.

Skrandžio audinio homogenatų inkubacija pelkinės vingiorykštės tinktūra, nors ir sumažino antioksidacinių fermentų aktyvumą juose, tačiau stipriai padidino bendrą AOA. Po eksperimentinės opaligės gydymo vingiorykštės tinktūra *per os* ryškiai sumažėjo oksidacinio pažeidimo rodiklio MDA kiekis skrandžio audinio homogenatuose.

Taigi, gydymas vingiorykštės tinktūra teigiamai veikė skrandžio gleivinę, ypač mažino infiltraciją neutrofiliniais leukocitais bei gerino organizmo pro/antioksidacinės sistemos būklę.

Duomenų apie kaštono žiedų tinktūrų poveikį opaligės gydymui literatūroje neaptikome. Mūsų atliktuose tyrimuose ji teigiamai veikė pro/antioksidacinės sistemos rodiklius kraujo serume, ypač KAT aktyvumą, kuris po gydymo šia tinktūra padidėjo 44,9%. Po eksperimentinės opaligės gydymo kaštono žiedų tinktūra *per os*, skrandžio audinio homogenatuose ryškiai sumažėjo MDA kiekis, ir nežymiai išaugo AOA. Nors šioje grupėje stebėtas reikšmingas SOD kiekio padidėjimas gryname skrandžio audinio homogenate, tačiau jis nereikšmingai sumažėjo inkubavus homogenatą kaštono žiedų tinktūra.

SOD vaidina svarbų vaidmenį pašalinant skrandžio gleivinės pažeidimus, dalinai apsaugant nuo oksidacinio pažeidimo. Ji suardo labai reaktyvų $O_2^{\cdot-}$ radikalą paversdamas jį mažiau reaktyviu H_2O_2 , kuris gali būti suardytas dalyvaujant KAT. Literatūriniai duomenys rodo, kad SOD aktyvumas žiurkių skrandžio audiniuose yra sumažėjęs vartojant nesteroidinius vaistus nuo uždegimo [Figge, Figge, 1990; Elliot, Wallace, 1998; Basiviredy ir kt., 2003; Dengiz ir kt., 2007]. Mūsų duomenys rodo, kad indometacinu sukeltos opaligės metu slopinamas SOD. Tai reiškia, kad veikiant SOD, superoksido radikalai nevirsta į H_2O_2 [Dengiz ir kt., 2007].

Gauti duomenys, liečiantys KAT aktyvumą, prieštarauja kai kurių autorių pastebėjimams [Dengiz ir kt., 2007], kuriuose nustatyta, kad žiurkėms, gavusioms indometaciną, KAT aktyvumas skrandžio audinio homogenatuose padidėja, ir lemia padidėjusį H_2O_2 kiekį. Manoma, kad KAT aktyvumas indometacinu paveiktuose audiniuose gali padidėti dėl spontaninės

dismutacijos, kai superoksido radikalai spontaniškai virsta į H_2O_2 ir peroksilo (HO_2^{\cdot}) radikalus rūgštinėje terpėje [Mahadic, Scheffer, 1996]. Be to, superoksido ir perhidroksilo radikalai veikia vienas kitą, kas sukelia ir oksidaciją ir redukciją. Mūsų tyrimuose, sukeltą opaligę indometacinu ir gydant ją augalų tinktūromis, KAT aktyvumas skrandžio audinio homogenatuose buvo sumažėjęs. Galima būtų galvoti, kad šį KAT aktyvumo mažėjimą lėmė etanolio tirpalas naudotas tinktūrų gamybai, tačiau ir buferinis tirpalas (duomenys nepateikti), pridėjus jį prie skrandžio audinio homogenatų panašiai veikė šio fermento aktyvumą. Tirpiklis neturėjo įtakos AOA..

Kaip žinoma, gastroenteropatija paplitusi tarp ligonių, sergančių reumatinėmis ligomis naudojant nesteroidinius vaistus nuo uždegimo. Šių vaistų sukeltų pažeidimų patogenezė susijusi su endogeninių prostaglandinų sintezės slopinimu. Paskelbta, kad ligoniai, sergantys reumatoidiniu artritu (RA) yra daug jautresni nesteroidinių vaistų nuo uždegimo sukeltiems skrandžio gleivinės pažeidimams, nei kiti šių vaistų vartotojai, nors padidėjusio jautrumo mechanizmas nėra aiškus. Kadangi viena iš RA etiopatogenezės grandžių yra oksidacinis stresas, o ligoniams dažnai pažeidžiamas skrandžio-žarnyno traktas, dėl minėtų vaistų vartojimo. Savo darbe, panaudodami eksperimentinį RA modelį – žiurkių adjuvantinį artritą (AA), sukėlėme šiems gyvūnams ir eksperimentinę opaligę ir įvertinome histologinius ir biocheminius pokyčius skrandyje bei pro/antioksidacinės sistemos būklę gydant pataloginį procesą augaliniais preparatais. Duomenys apie skrandžio gleivinės opaliges, sukeltas nesteroidinių vaistų nuo uždegimo, gyvūnams su AA yra prieštaringi. Vieni autoriai neranda reikšmingo skirtumo tarp normalių ir AA sergančių žiurkių, kurioms atsiranda skrandžio pažeidimai naudojant aspiriną [Rainsford, 1978], kiti, priešingai, skelbia, kad opiniai gleivinės pažeidimai naudojant tokius vaistus, kaip indometacinas, yra daug stipresni žiurkėms su AA nei normalioms [McCafferty ir kt., 1995; Kato ir kt., 1999], o taikant opų sukėlimui HCl/etanolį, net mažesni (Kato ir kt., 1999).

Reikia pažymėti, kad mūsų darbe skrandžio gleivinės pažeidimo plotas sukėlus opaligę AA sergančioms žiurkėms buvo 53,2% didesnis negu

normalioms (atitinkamai 51,85 mm² ir 33,84 mm²). Joms stebėjome stipresnius patomorfologinius pokyčius skrandžio gleivinėje: trečdaliui gyvūnų radome vidutinio laipsnio ir ryškias erozijas, o opos atsirado 88,9% žiurkių, iš kurių pusei buvo ryškios, o kitai pusei - vidutinės. Stebėjome didesnę pilnakraujystę, infiltraciją makrofagais ir ypač neutrofiliniais leukocitais, kuri beveik dvigubai viršijo normalių žiurkių su opalige infiltraciją. Taigi, mūsų gauti duomenys patvirtino autorių, stebėjusių stipresnius pokyčius skrandžio gleivinėje, sukėlus opaligę indometacinu žiurkėms su AA nei normalioms [McCafferty ir kt., 1995; Kato ir kt., 1999]. Stipresnis opinis skrandžio gleivinės indometacinu pažeidimas žiurkėms su AA, rodo, kad egzistuoja ryšys tarp sisteminio uždegimo ir padidėjusio skrandžio gleivinės jautrumo indometacinui. Gerai žinoma, kad skrandžio rūgštis vaidina svarbų vaidmenį skrandžio gleivinės pažeidimuose, vartojant indometaciną. AA sergančioms žiurkėms, skrandžio rūgšties sekrecija žymiai didesnė, nei sveikoms [Schleyerbach, Wedde, 1984; Kato ir kt., 1999], todėl galima galvoti, kad padidėjęs atsakas į indometaciną susijęs su skrandžio padidėjusiu rūgštingumu. Tačiau kai kurie autoriai nurodo, kad opaligę sukeliantis atsakas į indometaciną AA žiurkėms susijęs su endogeniniu azoto monoksidu (NO) [Kato ir kt., 1999].

Eksperimentinės opaligės sukėlimas žiurkėms su AA, ypač stipriai sumažino antioksidacinio fermento KAT aktyvumą ir AOA kraujo serume. Po gydymo vingiorykštės tinktūra žiurkėms su AA skrandžio gleivinės pažeidimo indeksas sumažėjo 11,5%. Nors nebuvo gauta reikšmingų skirtumų tarp gydytų ir negydytų gyvūnų su AA ir eksperimentine skrandžio opalige grupių, vingiorykštės žiedų tinktūra sumažino skrandžio gleivinės edemą, infiltraciją makrofagais ir neutrofiliniais leukocitais o AOA ir SOD aktyvumas kraujo serume reikšmingai padidėjo.

Reikšmingas SOD aktyvumo sumažėjimas buvo stebėtas skrandžio gleivinės homogenatuose po jų inkubacijos vingiorykštės žiedų tinktūra žiurkėms su AA ir eksperimentine opalige. Tuo tarpu, AOA skrandžio gleivinės homogenatuose po inkubacijos reikšmingai padidėjo tiek pastariesiems, tiek ir AA kontrolinės grupės gyvūnams.

Ryškesni pokyčiai gauti tiriant KAT kiekį skrandžio audinio homogenatuose, inkubuotuose vingiorykštės žiedų tinktūra, kur stebėtas ryškus šio fermento sumažėjimas. Kaip jau buvo minėta, galbūt tokį mažėjimą sukėlė tirpiklis etanolis, nes pridėjus jį prie gryno homogenato stipriai sumažėjo KAT aktyvumas jame. Etanolis neturėjo reikšmingos įtakos MDA, SOD ir AOA rodikliams.

Vertinant skrandžio audinio homogenatų inkubaciją kaštono žiedų tinktūromis, ryškiausi pokyčiai aptikti tiriant KAT kiekį, kuris taip pat reikšmingai mažėjo.

Tiek normalių gyvūnų su opa grupėje, tiek žiurkėms su AA opaligės grupėje, augalinės tinktūros panašiai veikė pro/antioksidacinės sistemos rodiklius skrandžio audinio homogenatuose inkubuotuose jomis. Abi tinktūros nežymiai didino MDA kiekį išopėjusioje skrandžio gleivinėje, tačiau mažino sveikoje gleivinėje. Tačiau kaštono žiedų tinktūra mažesniu laipsniu slopino KAT ir smarkiau didino SOD aktyvumą, kai tuo tarpu AOA labiau suaktyvėjo po inkubacijos vingiorykštės tinktūra. Bandomųjų grupių, gavusių *per os* augalines tinktūras, skrandžio audinio homogenatuose inkubuotuose jomis išliko ta pati tendencija, tik fermento SOD aktyvumas buvo mažesnis nei neinkubuotuose homogenatuose.

Parodyta, kad įvairios augalinės substancijos pasižymi ne tik apsaugančiu skrandį poveikiu, bet ir sustiprina žaizdų gijimą [Graziani ir kt., 2005; Zayachkivska ir kt., 2005], pasižymi priešuždegiminiu poveikiu slopinant neutrofilų/citokinų kaskadą skrandžio-žarnyno trakte [Alarcon de la Lastra ir kt., 1995], pagreitina audinių atsistatymą per įvairių augimo faktorių ekspresiją [Kim ir kt., 2004], veikia kaip antioksidantai [Kim ir kt., 2004] bei pašalina ROS [Liu ir kt., 2002; Pastrada-Bonilla ir kt., 2003]. Galima galvoti, kad ir mūsų tirtos vingiorykštės ir kaštono žiedų tinktūros, dėl savo antioksidacinio poveikio užkerta kelią žiurkių skrandžio gleivinės pažeidimams, atsiradusiems sukėlus eksperimentinę opaligę indometacinu.

Tyrimai su ligoniais rodo, kad psichologinis stresas, rūkymas, alkoholio ir nesteroidinių vaistų nuo uždegimo vartojimas lemia opaligės atsiradimą

[Yuan, Hunt, 2006]. Dvylikapirštės ir skrandžio opos atvejais, pažeidimo mechanizmai skiriasi. Duodeninė opa yra iš esmės su *H. pylori* susijusi liga, kylanti dėl padidėjusios rūgšties gamybos ir sustiprėjusio pepsino poveikio bei gleivinės metaplazijos dvylikapirštės žarnos stormenyje [Dore, Graham, 2000].

Reikia pažymėti, kad *H. pylori* išvengia imuninės sistemos atakos ir, dalyvaujant įvairiems mechanizams, sukelia lėtinį vangų uždegimą. Ji gali pažeisti gleivinės apsauginę sistemą, mažindama jos sluoksnio storį, kraujotaką bei sąveikodama su skrandžio epiteliumi įvairiose infekcijos stadijose [Yuan ir kt., 2006]. Oksidaciniai procesai ir antioksidantinė apsauga vaidina svarbų vaidmenį gastroduodeninės srities patologijoje. Ligoniams, sergantiems opa, kraujo serume didėja lipidų peroksidacijos produktų, tokių kaip MDA koncentracija [Tummala ir kt., 2004]. Šį dėsningumą patvirtina ir mūsų tyrimo duomenys. Didelis šio produkto kiekis apsprendžiamas tuo, kad suaktyvėja ši sistema pažeistoje dvylikapirštės žarnos ir skrandžio gleivinės srityje. Paskelbta darbu, kad bendras oksidacinis aktyvumas ir plazmos MDA koncentracija yra didesnė ligoniams, turintiems *H. pylori* infekciją palyginus su neinfekuotais asmenimis, o padidėjusi jų produkcija mažėja pašalinus *H. pylori* [Mashimo ir kt., 2006]. Mūsų tyrime gastroduodeninio proceso gijimo stadijoje MDA rodmuo taip pat mažėjo, kartu mažėjo *H. pylori* infekuotumas. Tuo pačiu metu opos vystymąsi ir uždegiminį procesą lydi antioksidacinės skrandžio ir dvylikapirštės žarnos apsaugos sistemos aktyvumo (AOA) sumažėjimas.

Daugelyje tyrimų parodyta, kad *H. pylori* infekcija susijusi ir su reaktyvių deguonies molekulių, sukeliančių stiprų oksidacinio streso atsaką žmogaus skrandžio gleivinėje, generacija [Morozov ir kt., 1992; Santra ir kt., 2000; Nardone ir kt., 2004]. Sergant *H. pylori* gastritu skrandžio gleivinėje MDA kiekis padidėja, o glutationo apykaita tampa spartesne, negu sergant ne *H. pylori* sukeltu gastritu [Ramarao ir kt., 2000], tuo tarpu sergantiems dvylikapirštės žarnos opa, glutationo kiekis skrandžio gleivinėje reikšmingai mažesnis, o MDA didesnis nepriklausomai nuo to, yra ar ne *H. pylori* infekcija [Santra ir kt., 2000; Giamarellos-Bourboulis ir kt., 2003]. Mes savo darbe

netyrėme MDA kiekio gleivinės biopsinėje medžiagoje, tačiau nustatėme H₂O₂ kiekio kitimą gleivinėje bei vertinome pokyčius kraujo serume. Literatūroje neradome darbų, aprašančių H₂O₂, kaip tarpinio metabolito ROS neutralizavimo grandinėje kiekio kitimus esant gastroduodeninei patologijai.

Mūsų tyrime oksidaciniai procesai tiek kraujyje, tiek skrandžio gleivinėje suintensyvėjo sergant lėtiniu gastritu ir skrandžio opa, nors reikšmingi skirtumai lyginant su kontrole rasti tik tiriant H₂O₂ kiekį skrandžio gleivinėje. Ryškiausias MDA padidėjimas rastas ligoniams, sergantiems dvylikapirštės žarnos opalige, tuo tarpu kai H₂O₂ kiekis jos gleivinėje reikšmingai sumažėjo. Ryškus H₂O₂ kiekio sumažėjimas aptinkamas ir dvylikapirštės žarnos gleivinėje sergant lėtiniu gastritu ir skrandžio opalige, tuo tarpu kai skrandžio gleivinės biopsiatuose lėtinio gastrito ir gyjančios skrandžio opos atvejais H₂O₂ kiekis padidėjo daugiau nei 2 kartus, o sergant skrandžio opa išaugo 40%. Nors gyjant opoms pro/antioksidacinės sistemos rodikliai kraujo serume artėjo prie kontrolinės grupės lygio, tačiau, H₂O₂ kiekis gyjančioje skrandžio gleivinėje išliko statistiškai reikšmingai didesnis, o gyjančioje dvylikapirštės žarnos gleivinėje reikšmingai sumažėjęs. AOA aktyvumas kraujo serume reikšmingai sumažėjo sergant visomis tirtomis ligomis. Ryškiausias sumažėjimas rastas ligoniams sergantiems dvylikapirštės žarnos opalige. Sumažėjusį AOA lydėjo KAT aktyvumo kraujo serume padidėjimas sergantiems lėtiniu gastritu ir sumažėjimas gyjant dvylikapirštės žarnos opai, nors kiti autoriai nurodo, kad opaligės procesas reikšmingai padidina AOA kraujo serume lyginant su kontroline grupe [Augusto ir kt., 2007].

Gausiausias skrandžio gleivinės infekuotumas *H. pylori* bakterija mūsų darbe aptiktas ligoniams sergantiems skrandžio opa, kur ji rasta visiems 100% tirtų ligonių. Kiti autoriai *H. pylori* infekciją nustatė 94% atveju, sergant dvylikapirštės opa [Janulaitytė-Gunther ir kt., 2005]. *H. pylori* infekuotoje skrandžio gleivinėje kyla aktyvus uždegimas su neutrofilų infiltracija ūmioje fazėje ir makrofagų, monocitų, limfocitų bei plazminių ląstelių infiltracija

lėtinėje fazėje [Fiocca ir kt., 1994]. Šie neutrofilai ir makrofagai (monocitai) gamina daug deguonies laisvųjų radikalų, kurie sukelia ląstelių pažeidimą, todėl pažeidžiama gleivinė, o fagocitinių ląstelių sukeltas oksidacinis procesas ardo skrandžio audinį [Augusto ir kt., 2007]. Demir su bendr. [2003] nustatė, kad didesni skrandžio gleivinės MDA kiekiai dažniau randami sergantiems dvylikapirštės žarnos opa, negu gastritu ligoniams ar neužsikrėtusiems *H. pylori* infekcija. Tai stebėjome ir šiame tyrime. Parodyta, kad *H. pylori* padermės iš ligonių, sergančių dvylikapirštės žarnos opa, sukelia didesnę neutrofilų aktyvumą, negu sergant gastritu aptinkamomis padermėmis [Danese ir kt., 2001].

Mūsų darbe ligoniams su skrandžio opa stebėtas didžiausias uždegimo aktyvumas, 2,6 karto viršijantis kontrolinės grupės skrandžio gleivinėje stebimą aktyvumą, tris kartus didesnis *H. pylori* infekuotumas ir 40% padidėjęs H₂O₂ kiekis. Teigiama, kad *H. pylori* metabolitai, aktyvuodami neutrofilus ir didindami reaktyvių ROS kiekį, slopina skrandžio peroksidazės aktyvumą, todėl didėja endogeninio H₂O₂, kuris palaiko didesnę oksidacinę foną požeidimo vietoje [Bhattacharjee ir kt., 2002]. Lėtinio gastrito ir gyjančios skrandžio opos metu jo kiekis taip pat daugiau kaip du kartus didesnis nei kontrolėje. Gyjančios skrandžio opos ligonių grupėje uždegimo aktyvumas sumažėjęs 22%, o infekuotumas *H. pylori* beveik tris kartus. Infekcijos nerasta 37,5% ligonių, tačiau, nežiūrint to, H₂O₂ kiekis skrandžio gleivinėje buvo reikšmingai padidėjęs, matyt dėl nemažo 62,5% pacientų infekuotumo.

Reikia pažymėti, kad ligoniams su dvylikapirštės žarnos opalige uždegimo aktyvumas skrandžio gleivinėje ir jos infekuotumas *H. pylori* buvo padidėjęs virš dviejų kartų. Iš 16 tirtų ligonių tik dviem nerasta bakterijų, o visi kiti skrandžio gleivinės pavyzdžiai buvo infekuoti. Gyjant dvylikapirštės žarnos opai, skrandžio gleivinės infekuotumas mažėjo ne taip ryškiai, kaip gyjant skrandžio opai. Tačiau H₂O₂ kiekis skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinėje sumažėjęs tiek sergant dvylikapirštės žarnos opalige, tiek ir jai gyjant. Kodėl sumažėja H₂O₂ kiekiai skrandžio gleivinėje, kuri 87,5% atvejų infekuota *H. pylori*, sergant dvylikapirštės žarnos opalige, reikėtų dar

pasiaiškinti. Tas pats klausimas kyla, kodėl gyjant skrandžio opai H_2O_2 kiekis skrandžio gleivinėje didėja, o gyjant dvylikapirštės žarnos opai – mažėja. Literatūroje panašių duomenų neaptikome. Gal tai lemia skirtingos cheminės reakcijos vykstančios dėl nevienodo rūgštingumo tiriamosiose srityse, nes skrandyje vyrauja rūgštinė reakcija, o dvylikapirštėje – šarminė. Tai taip pat gali būti susiję ir su skirtingais kraujotakos pokyčiais skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinėje. Kraujotakos įtaką gastroduodeninei patologijai tyrę autoriai [Bobryshev ir kt., 2006] nustatė didesnius pažeidimus gleivinėje didėjant kraujotakos sutrikimui. Opos krašte esančiuose audiniuose nustatytas padidėjęs mikrokraujagyslių tankumas, angiogenezės stimuliacija [Dai ir kt., 2005]. Angiogenezė aktyvina įvairių augimo veiksnių gamybą. Žinoma, kad audinio ar organo funkcija tiesiogiai susijusi su gera kraujotaka, lemiančia gerą oksigenaciją ir mitybinių medžiagų transportą. Išemija yra svarbus audinio destrukcijos, šiuo atveju opaligės, atsiradimo veiksnys [Hoff ir kt., 2009]. Manoma, kad intensyvėjanti kraujotaka gijimo metu gali būti intensyvėjančių oksidacinių procesų priežastimi, kurie yra natūralaus ląstelės atsistatymo, metabolizmo proceso dalis. Nustatytas ir tiesioginis skrandžio kraujotaką mažinantis *H. pylori* ekstraktų poveikis [Kalia ir kt., 2002]. Sutrikusi kraujotaka yra lemiamą priežastis visiems kitiems opaligę skatinantiems veiksniams pasireikšti. Nors yra darbų, kuriuose, stebint pacientus po intervencijų, nerasta ryšio tarp skrandžio gleivinės kraujotakos intensyvumo ir bendros kraujotakos [Thoren ir kt., 2000].

Mes neradome statistiškai reikšmingų skirtumų vertinant H_2O_2 kiekį skrandžio gleivinėje įvairių gastroduodeninės srities patologijų atvejais tarp *H. pylori* neigiamų ir *H. pylori* teigiamų grupių, išskyrus sergančius skrandžio opa, kur visais atvejais rasta ši bakterija, tačiau didesni H_2O_2 kiekiai nustatyti *H. pylori* infekuotiems ligoniams, sergantiems lėtiniu gastritu, skrandžio opa, gyjančia dvylikapirštės žarnos opa ir net kontrolinės grupės asmenims. Šiuos duomenis galėtų pagrįsti tikslesni *H. pylori* nustatymo metodai. Gali būti, kad eilėje *H. pylori* neigiamų biopstatų, naudojant jautresnę polimerazės grandžių reakciją (PGR), ši infekcija būtų patvirtinta, ką yra parodę ir Izzotti su

bendraautorais [Izzotti ir kt., 2007], nustatę kad PGR buvo teigiama nesant *H. pylori* augimo kultūroje.

Literatūroje aprašyti įvairiausi augalinės kilmės gastroprotektoriai, kurie daugelyje šalių naudojami klinikinėje ir liaudies medicinoje dėl teigiamo poveikio skrandžio-žarnos gleivinei. Augaliniai preparatai, turtingi flavonoidais plačiai taikomi peptinių opų terapijoje, o taip pat kaip maisto priedai ar maistiniai papildai dėl jų stipraus prostaglandinų metabolizmo slopinimo, leukotrienų vazokonstriktinių savybių slopinimo [Zayachkivska ir kt., 2005].

Mes savo darbe ištyrėme H_2O_2 kiekį skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose, gautuose iš ligonių, sergančių gastroduodeninės srities ligomis, inkubavus juos vingiorykštės ir kaštono žiedų tinktūromis. 40° etanolio tirpalas, kuris naudojamas tinktūrų gamybai reikšmingos įtakos H_2O_2 kiekiui skrandžio gleivinėje, sergant visomis tirtomis ligomis, neturėjo, išskyrus ligonius, sergančius skrandžio opa, kur etanolis sumažino H_2O_2 kiekį. Tas pats stebėta ir dvylikapirštės žarnos gleivinės homogenatuose, gautuose iš ligonių su gyjančia skrandžio opa, kur pridėjus etanolį, H_2O_2 kiekis sumažėjo 49,7%.

Abi augalinės tinktūros didesniu ar mažesniu laipsniu veikė H_2O_2 kiekį skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose, gautuose iš ligonių, sergančių gastroduodeninės srities ligomis. Ryškesniu poveikiu mažinant H_2O_2 kiekį skrandžio gleivinės audinio homogenatuose, gautuose iš ligonių, sergančių skrandžio opa, gyjančia skrandžio opa ir dvylikapirštės žarnos pasižymėjo vingiorykštės žiedų tinktūra. Tačiau jo kiekis padidėjo skrandžio audinio homogenatuose, paimtuose iš ligonių sergančių dvylikapirštės žarnos opalige. Inkubavus homogenatus kaštono žiedų tinktūra, H_2O_2 kiekis sumažėjo tik homogenatuose, gautuose iš pacientų su gyjančia skrandžio opa. Reikia pažymėti, kad ir homogenatuose, pagamintuose iš normalios (nepažeistos) skrandžio gleivinės audinio, tinktūrų poveikis H_2O_2 kiekiui juose buvo skirtingas: vingiorykštės tinktūra mažino, o kaštono – didino, nors aptikti skirtumai buvo nereikšmingi.

Dvylikapirštės žarnos audinio homogenatuose, gautuose iš ligonių sergančių lėtiniu gastritu, skrandžio opa ir gyjančia skrandžio opa, H₂O₂ kiekį mažino abi augalinės tinktūros ir tik sergantiems dvylikapirštės žarnos opalige, po inkubacijos tinktūromis H₂O₂ kiekis padidėjo. Abi tinktūros skirtingai veikė dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose, ligoniams, su gyjančia dvylikapirštės žarnos opa: vingiorykštės tinktūra mažino H₂O₂ kiekį, o kaštono žiedų tinktūra – jį didino. Abi tinktūros vienodai veikė dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatus, iš asmenų be nusiskundimų, reikšmingai mažindamos H₂O₂ kiekį juose.

Apibendrinant gautus duomenis, galime konstatuoti, kad vingiorykštės žiedų tinktūra pasižymėjo ryškesniu poveikiu ir dažniausiai stipriau negu kaštono žiedų tinktūra veikė H₂O₂ kiekį. Reikšmingi skirtumai tarp naudotų tinktūrų gauti skrandžio audinio gleivinės homogenatuose, paimtuose iš ligonių, su skrandžio opa, dvylikapirštės žarnos opa ir gyjančia skrandžio opa. Mažesnis H₂O₂ kiekis po inkubacijos vingiorykštės žiedų tinktūra rastas ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose, nors reikšmingų skirtumų tarp tinktūrų poveikio neaptikome. Tik ligoniams su gyjančia skrandžio opa, tiek skrandžio, tiek ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose kaštono žiedų tinktūra stipriau slopino H₂O₂ kiekį negu pelkinės vingiorykštės žiedų tinktūra.

Tačiau palyginus H₂O₂ kiekį inkubuotuose augalinėmis tinktūromis homogenatuose su jo kiekiu, randamu nepakitusios gleivinės inkubuotuose homogenatuose, statistiškai reikšmingas H₂O₂ sumažėjimą aptikome tik dvylikapirštės žarnos opa sergančiųjų skrandžio gleivinės audinio homogenatuose, inkubuotuose vingiorykštės žiedų tinktūra. Tačiau abi tinktūros statistiškai reikšmingai mažino H₂O₂ kiekį dvylikapirštės žarnos audinio homogenatuose, paimtuose iš ligonių, sergančių lėtiniu gastritu.

Taigi, tirti augaliniai preparatai, ypač vingiorykštės žiedų tinktūra, aiškiai pasižymi antioksidaciniu aktyvumu ir mažindama H₂O₂ apsaugo skrandžio gleivinę nuo žalojančio jo poveikio. Antioksidacinės pelkinės vingiorykštės savybės yra aprašytos [Kähkönen ir kt., 1999; Sroka ir kt., 2001].

Šiomis savybėmis pasižymi flavonoidai ir taninai, tačiau augalas turi nemažai metilsalicilatų, daugiausiai salicilaldehido [Bisset, 1994]. Salicilo rūgšties dariniai (panašūs į aspiriną) gali inicijuoti laisvųjų radikalų gamybą skrandžio gleivinės audinyje, todėl gali ryškiai mažėti KAT kiekis. Kaštono sudėtyje esančios medžiagos flavonoidai, saponinai gali lengviau surišti laisvuosius radikalus. Nelabai aišku, kodėl po inkubacijos šia tinktūra, H_2O_2 kiekis padidėja skrandžio gleivinės homogenatuose, paimtuose iš ligonių, sergančių gyjančia dvylikapirštės žarnos opa, bei dvylikapirštės žarnos gleivinės homogenatuose, paimtuose iš sergančiųjų dvylikapirštės žarnos opalige. Tam, kad tiksliai atsakyti į šį klausimą, reikalingi tolimesni tyrimai.

6. IŠVADOS

1. Sukeliant eksperimentinę opaligę indometacinu, ryškiai sumažėja antioksidantinio fermento katalazės aktyvumas ir bendras antioksidantinis aktyvumas kraujo serume ir superoksidismutazės aktyvumas skrandžio gleivinės homogenatuose.
2. Vingiorų žiedų tinktura sumažina skrandžio gleivinės pažeidimus, didina kraujo serume bendrą antioksidantinį aktyvumą, o skrandžio gleivinės homogenatuose, inkubuotuose ja, ryškiai mažina maloninio dialdehido koncentraciją ir didina bendrą antioksidacinį aktyvumą.
3. Eksperimentinės opaligės metu kaštono žiedų tinktura padidina katalazės aktyvumą kraujo serume, o skrandžio audinio homogenatuose ryškiai mažina maloninio dialdehido kiekį.
4. Sergant gastroduodeninės srities ligomis didėja maloninio dialdehido koncentracija kraujyje ir vandenilio peroksido kiekis skrandžio gleivinėje. Šis padidėjimas susijęs su *H. pylori* infekuočumu sergantiems lėtiniu gastritu ir skrandžio opa.
5. Vingiorų tinktura ryškiausiai mažina vandenilio peroksido kiekį skrandžio gleivinės homogenatuose ligoniams, sergantiems skrandžio ir dvylikapirštės žarnos opomis, o dvylikapirštės žarnos gleivinės homogenatuose, sergantiems lėtiniu gastritu, skrandžio opomis ir gyjančiomis dvylikapirštės žarnos opomis, tačiau didina esant ūmiai dvylikapirštės žarnos opai.
6. Kaštono žiedų tinktura stipriau negu vingiorų slošina vandenilio peroksido kiekį skrandžio ir dvylikapirštės žarnos gleivinės audinio homogenatuose ligoniams su gyjančia skrandžio opa, o dvylikapirštės žarnos gleivinės homogenatuose - sergantiems lėtiniu gastritu, skrandžio opomis ir didina sergant dvylikapirštės žarnos opalige.

7. LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Anthony JR, Warczak KL, and Donohue TJ. A transcriptional response to singlet oxygen, a toxic byproduct of photosynthesis. PNAS, 2005 May, 102, 18:6502–6507.
2. Abebe W. Herbal medication: potential for adverse interactions with analgesic drugs. J Clin Pharm Ther 2002; 27(6): 391-401.
3. Akyön Y. Effect of antioxidants on the immune response of *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol Infect 2002; 8(7): 438-41.
4. Alanko J, Riutta A, Holm P, Mucha I, Vapaatalo H, Metsä-Ketelä T. Modulation of arachidonic acid metabolism by phenols: relation to their structure and antioxidant/prooxidant properties. Free Radic Biol Med 1999 Jan;26(1-2):193-201.
5. Alarcón de la Lastra AC, Martín MJ, Motilva V, Jiménez M, La Casa C, López A. Gastroprotection induced by silymarin, the hepatoprotective principle of *Silybum marianum* in ischemia-reperfusion mucosal injury: role of neutrophils. Planta Med 1995; 61(2): 116-9.
6. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 Sep 1;90(17):7915-22. Review.
7. Amresh G, Zeashan H, Gupta RJ, Kant R, Venkateswara R, Singh PN. Gastroprotective effects of ethanolic extract from *Cissampelos pareira* in experimental animals. J Nat Med 2007; 61: 323-8.
8. Andersen LP, Holck S, Janulaityte-Günther D, Kupcinskas L, Kiudelis G, Jonaitis L, Janciauskas D, Holck P, Bennedsen M, Permin H, Norn S, Wadström T. Gastric inflammatory markers and interleukins in patients with functional dyspepsia, with and without *Helicobacter pylori* infection. FEMS Immunol Med Microbiol. 2005; 44(2): 233-8.
9. Andersen LP, Holck S, Kupcinskas L, Kiudelis G, Jonaitis L, Janciauskas D, Permin H ir Wadstrom T. Gastric inflammatory markers and interleukins in patients with functional dyspepsia treated with astaxanthin. FEMS Immunol Med Microbiol 2007, 50, 244-248.
10. Arakawa T, Watanabe T, Fukuda T, Higuchi K, Fujiwara Y, Kobayashi K, Tarnawski A. Ulcer Recurrence Citokines and inflammatory response-dependent process. Digestive Diseases and Sciences 1998; 43(9): 615-65.
11. Arend A, Loime L, Roosaar P, Soom M, Lõivukene K, Sepp E, Aunapuu M, Zilmer K, Selstam G, Zilmer M. *Helicobacter pylori* substantially increases oxidative stress in indomethacin-exposed rat gastric mucosa. Medicina (Kaunas) 2005; 41(4): 343-7.
12. Arnold RS, Shi J, Murad E, Whalen AM, Sun CQ, Polavarapu R, Parthasarathy S, Petros JA, Lambeth JD. Hydrogen peroxide mediates the cell growth and transformation caused by the mitogenic oxidase Nox1. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98(10): 5550-5.
13. Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*.

- Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 1995; 270(30): 17771-7.
14. Atherton JC. The clinical relevance of strain types of *Helicobacter pylori*. *Gut* 1997; 40(6): 701-3.
 15. Augusto AC, Miguel F, Mendonça S, Pedrazzoli J Jr, Gurgueira SA. Oxidative stress expression status associated to *Helicobacter pylori* virulence in gastric diseases. *Clin Biochem* 2007; 40(9-10): 615-22.
 16. Baek HY, Lim JW, Kim H, Kim JM, Kim JS, Jung HC, Kim KH. Oxidative-stress-related proteome changes in *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa. *Biochem J* 2004; 79(Pt 2): 291-9.
 17. Bagchi D, Bhattacharya G, Stohs SJ. Production of reactive oxygen species by gastric cells in association with *Helicobacter pylori*. *Free Radic Res* 1996; 24(6): 439-50.
 18. Bandyopadhyay D, Biswas K, Bhattacharyya M, Reiter RJ, Banerjee RK. Gastric toxicity and mucosal ulceration induced by oxygen-derived reactive species: protection by melatonin. *Curr Mol Med* 2001; 1(4): 501-13.
 19. Banerjee D, Maity B, Nag SK, Bandyopadhyay SK, Chattopadhyay S. Healing potential of *Picrorhiza kurroa* (Scrophulariaceae) rhizomes against indomethacin-induced gastric ulceration: a mechanistic exploration. *BMC Complement Altern Med* 2008; 8: 3.
 20. Barnaulov OD, Denisenko PP. Anti-ulcer action of a decoction of the flowers of the dropwort, *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. *Farmakol Toksikol* 1980; 43(6): 700-5.
 21. Bauditz J, Ortner M, Bierbaum M, Niedobitek G, Lochs H, Schreiber S. Production of IL-12 in gastritis relates to infection with *Helicobacter pylori*. *Clin Exp Immunol* 1999; 117(2): 316-23.
 22. Bauer V, Bauer F. Reactive oxygen species as mediators of tissue protection and injury. *Gen Physiol Biophys* 1999; 18 Spec No: 7-14.
 23. Bayir Y, Odabasoglu F, Cakir A, Aslan A, Suleyman H, Halici M, Kazaz C. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil-infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine* 2006; 13(8): 584-90.
 24. Bhattacharjee M, Bhattacharjee S, Gupta A, Banerjee RK. Critical role of an endogenous gastric peroxidase in controlling oxidative damage in *H. pylori*-mediated and nonmediated gastric ulcer. *Free Radic Biol Med* 2002; 32(8): 731-43.
 25. Bisset NG. *Herbal drugs and phytopharmaceuticals. A Handbook for practice on a scientific basis* 1994. Stuttgart, medpharm Scientific Publisher.
 26. Blaser MJ, Atherton JC. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. *J Clin Invest* 2004; 113(3): 321-33.
 27. Blumenthal MBW, Goldberg A et al. *The complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide To Herbal Medicines* 1998; Boston, MA: Integrative Medicine Communications.

28. Bobryshev P, Podvigina T, Maltcev N, Filaretova L. Gastric microcirculation as target of gastroprotective action of glucocorticoid hormones in rats with desensitization of capsaicin-sensitive sensory neurons. *Inflammopharmacology* 2006; 14(5-6): 236-42.
29. Bougelet C, Roland IH, Ninane N, Arnould T, Remacle J, Michiels C. Effect of aescine on hypoxia-induced neutrophil adherence to umbilical vein endothelium. *Eur J Pharmacol* 1998; 345(1): 89-95.
30. Bruneton J. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants* 1995; Paris, France, Lavoisier.
31. Calliste CA, Trouillas P, Allais DP, Simon A, Duroux JL. Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants. *J Agric Food Chem* 2001; 49(7): 3321-7.
32. Chandler RF. Horse Chestnut. *Canadian Pharm J* 1993; 297-302.
33. Chevallier A. *Encyclopedia of Medicinal Plants* 1996; New York, NY, DK Publishing.
34. Churin AA, Masnaia NV, Sherstoboev EIu, Shilova IV. Effect of *Filipendula ulmaria* extract on immune system of CBA/Calac and C57Bl/6 mice. *Eksp Klin Farmakol* 2008; 71(5): 32-6.
35. Ciancarelli I, Di Massimo C, Tozzi-Ciancarelli MG, De Matteis G, Marini C, Carolei A. *Helicobacter pylori* infection and migraine. *Cephalalgia* 2002; 22(3): 222-5.
36. Conner E, Miles AM, Aiko S, Grisham M. Therapeutic implications of their role in inflammatory disease. *Reactive Oxygen Metabolites. Clin Immunother* 1995; 3(6): 438-449.
37. Csovari S, Andyal T, Strenger J. Blood antioxidant parameters and their diagnostic value in elderly patients. *Lab delo* 1991; (10):9-13.
38. Czinner E, Hagymási K, Blázovics A, Kéry A, Szoke E, Lemberkovics E. The in vitro effect of *Helichrysis flos* on microsomal lipid peroxidation. *J Ethnopharmacol* 2001; 77(1): 31-5.
39. Dagilytė A. Pelkinė vingiorykštė. *Farmacija ir laikas* 2001; (4): 37.
40. Dai X-P, Li J-B, Liu Z-Q, Ding X, Huang C-H, Zhou B. Effect of Jianweiyuyang granule on gastric ulcer recurrence and expression of VEGF mRNA in the healing process of gastric ulcer in rats. *World J Gastroenterol* 2005; 11(35): 5480-4.
41. Danese S, Cremonini F, Armuzzi A, Candelli M, Papa A, Ojetti V, Pastorelli A, Di Caro S, Zannoni G, De Sole P, Gasbarrini G, Gasbarrini A. *Helicobacter pylori* CagA-positive strains affect oxygen free radicals generation by gastric mucosa. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36(3): 247-50.
42. Das D, Bandyopadhyay D, Banerjee RK. Oxidative inactivation of gastric peroxidase by site-specific generation of hydroxyl radical and its role in stress-induced gastric ulceration. *Free Radic Biol Med* 1998; 24(3): 460-9.

43. Das D, Bandyopadhyay D, Bhattacharjee M, Banerjee RK. Hydroxyl radical is the major causative factor in stress-induced gastric ulceration. *Free Radic Biol Med* 1997; 23(1): 8-18.
44. Das D, Banerjee RK. Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration. *Mol Cell Biochem* 1993; 125(2): 115-25.
45. Davies GR, Simmonds NJ, Stevens TR, Sheaff MT, Banatvala N, Laurenson IF, Blake DR, Rampton DS. *Helicobacter pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. *Gut* 1994; 35(2): 179-85.
46. Demir S, Yilmaz M, Köseoğlu M, Akalin N, Aslan D, Aydin A. Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. *Turk J Gastroenterol* 2003; 14(1): 39-43.
47. Dengiz GO, Odabasoglu F, Halici Z, Suleyman H, Cadirci E, Bayir Y. Gastroprotective and antioxidant effects of amiodarone on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *Arch Pharm Res* 2007; 30(11): 1426-34.
48. Didžiapetrienė J, Prasmickienė G, Šukelienė D, Pipirienė T. Oksidacinio streso pokyčiai gydant citostatikais krūties vėžiu sergančius ligonius. *Medicina*. 2000;36:855-858.
49. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996; 20(10): 1161-81.
50. Dore MP, Graham DY. Pathogenesis of duodenal ulcer disease: the rest of the story. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2000; 14(1): 97-107.
51. Drake IM, Mapstone NP, Schorah CJ, White KL, Chalmers DM, Dixon MF, Axon AT. Reactive oxygen species activity and lipid peroxidation in *Helicobacter pylori* associated gastritis: relation to gastric mucosal ascorbic acid concentrations and effect of H pylori eradication. *Gut* 1998; 42(6): 768-71.
52. Duke J. *Handbook of Medicinal Herbs* 1989; Boca Raton, FL, CRC Press Inc.
53. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10(4): 720-41.
54. Elliot SN, Wallace JL. Neutrophil-mediated gastrointestinal injury. *Canadian Journal of Gastroenterology* 1998; 12:559-68.
55. Esedov EM, Mamaev SN. Effects of mono- and combined peptic ulcer therapy on lipid peroxidation and antioxidant defense in ulcerous zone (in Russian). *Klin Med* 1998; 76(1): 28-31.
56. Faccino RM, Carini M, Stefani R, Aldini G, Saibene L. Anti-elastase and anti-hyaluronidase activities of saponins and sapogenins from *Hedera helix*, *Aesculus hippocastanum*, and *Ruscus aculeatus*: factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency. *Arch Pharm (Weinheim)* 1995; 328(10): 720-4.

57. Fant F, Vranken WF, Borremans FA. The three-dimensional solution structure of *Aesculus hippocastanum* antimicrobial protein 1 determined by 1H nuclear magnetic resonance. *Proteins* 1999; 37(3): 388-403.
58. Figge HL, Figge J. The effects of amiodarone on thyroid hormone function: a review of the physiology and clinical manifestations. *J Clin Pharmacol* 1990; 30(7): 588-95.
59. Fiocca R, Luinetti O, Villani L, Chiaravalli AM, Capella C, Solcia E. Epithelial cytotoxicity, immune responses, and inflammatory components of *Helicobacter pylori* gastritis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1994; 205: 11-21.
60. Galaktionova LP, Molchanov AV, El'chaninova SA, Varshavskii Bl. Lipid peroxidation in patients with gastric and duodenal peptic ulcers [Article in Russian] *Klin Lab Diagn* 1998; (6): 10-4.
61. Gavrilov VB, Gavrilova AR, Mazhul LM. Methods of determining lipid peroxidation products in the serum using a thiobarbituric acid test. *Vopr Med Khim* 1987; 33(1): 118-22.
62. Giamarellos-Bourboulis EJ, Tzivras M, Kourtesas D, Arnaoutis TP, Delladatsima I, Dionyssiou-Asteriou A, Davaris P, Vafiadis-Zouboulis I, Archimandritis A. Lipid peroxidation in chronic gastritis; any influence of *Helicobacter pylori*? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003; 68(4): 257-61.
63. Gostishchev VK, Khokhlov AM, Vorobeichik TA, Shimanovskaia NP. [Pathogenesis of varicose ulcers of the lower extremities][Article in Russian] *Khirurgiia (Mosk)* 1990; (5): 101-4.
64. Graham DY, Lew GM, Lechago J. Antral G-cell and D-cell numbers in *Helicobacter pylori* infection: effect of *H. pylori* eradication. *Gastroenterology* 1993; 104(6): 1655-60.
65. Graziani G, D'Argenio G, Tuccillo C, Loguercio C, Ritieni A, Morisco F, Del Vecchio Blanco C, Fogliano V, Romano M. Apple polyphenol extracts prevent damage to human gastric epithelial cells in vitro and to rat gastric mucosa in vivo. *Gut* 2005; 54(2): 193-200.
66. Greeske K, Pohlmann BK. [Horse chestnut seed extract--an effective therapy principle in general practice. Drug therapy of chronic venous insufficiency][Article in German] *Fortschr Med* 1996; 114(15): 196-200.
67. Grisham MB, Von Ritter C, Smith BF, Lamont JT, Granger DN. Interaction between oxygen radicals and gastric mucin. *Am J Physiol* 1987; 253(1 Pt 1):G93-6.
68. Guardia T, Juarez AO, Guerreiro E, Guzmán JA, Pelzer L. Anti-inflammatory activity and effect on gastric acid secretion of dehydroleucodine isolated from *Artemisia douglasiana*. *J Ethnopharmacol* 2003; 88(2-3): 195-8.
69. Guillaume M, Padioleau F. Veinotonic effect, vascular protection, antiinflammatory and free radical scavenging properties of horse chestnut extract. *Arzneimittelforschung* 1994; 44(1): 25-35.

70. Gurbuz I, Akyüz C, Yeşilada E, Sener B. Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats. *J Ethnopharmacol* 2000; 71(1-2): 77-82.
71. Gutteridge JMC. Biological Antioxidant: an introduction. In: *Antioxidants, Free Radicals and Polyunsaturated Fatty Acids*, 1993, 59-66.
72. Halici M, Odabasoglu F, Suleyman H, Cakir A, Aslan A, Bayir Y. Effects of water extract of *Usnea longissima* on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *Phytomedicine* 2005; 12(9): 656-62.
73. Halkes SBA, BCJ, Kroes BH, van der Berg AJJ, van Dijk H, Labadie RP. A strong complement inhibitor from flowers of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. *Pharmaceutical and Pharmacological Letters* 1997; (2): 79-82.
74. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280(1): 1-8.
75. Hamaishi K, Kojima R, Ito M. Anti-ulcer effect of tea catechin in rats. *Biol Pharm Bull* 2006; 29(11): 2206-13.
76. Harbourne N, Marete E, Jacquier JC, O'Riordan D. Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). *Food Science and Technology* 2009; 42(9). (In press)
77. Heck AM, DeWitt BA, Lukes AL. Potential interactions between alternative therapies and warfarin. *Am J Health Syst Phar* 2000; 57(13): 1221-7.
78. Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Churchill Livingstone, Edinburgh (2004).
79. Hida N, Shimoyama T Jr, Neville P, Dixon MF, Axon AT, Shimoyama T Sr, Crabtree JE. Increased expression of IL-10 and IL-12 (p40) mRNA in *Helicobacter pylori* infected gastric mucosa: relation to bacterial cag status and peptic ulceration. *J Clin Pathol* 1999; 52(9): 658-64.
80. Hitzenberger G. The therapeutic effectiveness of chestnut extract. *Wien Med Wochenschr.* 1989; 139(17): 385-9.
81. Hoff DAL, Gregersen H, Hatlebakk JG. Mucosal blood flow measurements using laser Doppler perfusion monitoring. *World J Gastroenterol* 2009; 15(2): 198-203.
82. Hoppe HA. *Taschenbuch der Drogenkunde* 1981; Berlin, New York.
83. Hung CR. Importance of histamine, glutathione and oxyradicals in modulating gastric haemorrhagic ulcer in septic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; (27): 306-312.
84. Izzotti A, De Flora S, Cartiglia C, Are BM, Longobardi M, Camoirano A, Mura I, Dore MP, Scanu AM, Rocca PC, Maida A, Piana A. Interplay between *Helicobacter pylori* and host gene polymorphisms in

- inducing oxidative DNA damage in the gastric mucosa. *Carcinogenesis* 2007; 28(4): 892-8.
85. Jankevičienė R. *Vasarą žydintys augalai*. Vilnius 1987; Mokslas.
 86. Janulaityte-Gunther D, Gunther T, Pavilionis A ir Kupcinskas L. What Bizzozero never could imagine - *Helicobacter pylori* today and tomorrow. *Medicina (Kaunas)* 2003; (39): 542-549.
 87. Jasiulevičiūtė L, Keturkienė A., Leonavičienė L. Influence of treatment with the tincture of *Aesculus hippocastanum* L. on Zinc and Magnesium content in liver and kidney of rats with adjuvant arthritis. *Acta medica Lituanica* 2002; 9(4): 269-272.
 88. Jiménez MD, Martín MJ, Alarcón de la Lastra C, Bruseghini L, Esteras A, Herrerías JM, Motilva V. Role of L-arginine in ibuprofen-induced oxidative stress and neutrophil infiltration in gastric mucosa. *Free Radic Res* 2004; 38(9): 903-11.
 89. Jonaitis L, Kiudelis G, Kupcinskas L. Gastroesophageal reflux disease after *Helicobacter pylori* eradication in gastric ulcer patients: a one-year follow-up study. *Medicina* 2008;44(3):211-215.
 90. Kandaswami C, Middleton E. Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. In: *Free Radicals in Diagnostic Medicine*, ed. Armstrong D. 1994, NY, Plenum Press, 351-376.
 91. Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem*. 1999; 47(10): 3954-62.
 92. Kalia N, Bardhan K D, Atherton J C, Brown N J. Toxigenic *Helicobacter pylori* induces changes in the gastric mucosal microcirculation in rats. *Gut* 2002; 51: 641-47.
 93. Kanner J, Lapidot T. The stomach as a bioreactor: dietary lipid peroxidation in the gastric fluid and the effects of plant-derived antioxidants. *Free Radic Biol Med* 2001; 31(11): 1388-95.
 94. Kataoka H, Horie Y, Koyama R, Nakatsugi S, Furukawa M. Interaction between NSAIDs and steroid in rat stomach: safety of nimesulide as a preferential COX-2 inhibitor in the stomach. *Dig Dis Sci* 2000; 45(7):1366-75.
 95. Kato S, Tanaka A, Kunikata T, Nishijima M, Takeuchi K. Changes in gastric mucosal ulcerogenic responses in rats with adjuvant arthritis: role of nitric oxide. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13(6): 833-40.
 96. Kawahara T, Teshima S, Oka A, Sugiyama T, Kishi K, Rokutan K. Type I *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide stimulates toll-like receptor 4 and activates mitogen oxidase 1 in gastric pit cells. *Infect Immun* 2001; 69(7): 4382-9.
 97. Keturkienė A, Leonavičienė L, Vaitkienė D. *Filipendula Ulmaria* (L.) maxim tincture toxicity studies in rats. *Baltic Journal of Laboratory Animal Science* 2002; 12(1-2): 62-67.
 98. Keturkienė A, Vaičiūnienė J, Leonavičienė L, Vaitkienė D, Jasiulevičiūtė L, Genytė L. Pelkinės vingiorykštės preparato gamybos būdas. *Patentas LT 4880 B*, 2002.01.25.

99. Keturkiene A, Vaitkienė D, Vaiciuniene J, Leonaviciene L. Pelkinės vingiorykštės ir paprastojo kaštono tinktūrų ūminio toksiškumo tyrimas. *Medicina* 2000; 36(8): 926-931.
100. Khosla P, Karan RS, Bhargava VK. Effect of garlic oil on ethanol induced gastric ulcers in rats. *Phytother Res* 2004; 18(1): 87-91.
101. Kim SC, Byun SH, Yang CH, Kim CY, Kim JW, Kim SG. Cytoprotective effects of Glycyrrhizae radix extract and its active component liquiritigenin against cadmium-induced toxicity (effects on bad translocation and cytochrome c-mediated PARP cleavage). *Toxicology* 2004; 197(3): 239-51.
102. Kiudelis G, Jonaitis LV, Kupčinskas L. Endoskopinių skrandžio uždegimo požymių vertė diagnozuojant *Helicobacter pylori* sukeltą skrandžio uždegimą. *Medicina*. 2001;37 (10):1039-1046.
103. Konturek PC. Physiological, immunohistochemical and molecular aspects of gastric adaptation to stress, aspirin and to *H. pylori*-derived gastrotoxins. *J Physiol Pharmacol* 1997; 48(1): 3-42.
104. Koroliuk MA, Ivanova LI, Mańorova IG, Tokarev VE. A method of determining catalase activity (in Russian). *Lab Delo* 1988; (1): 16-9.
105. Krishnendu G, Parag K, Aditi B, Rassel JR, Snehasikta S. Hydrogen peroxide-mediated downregulation of matrix metalloprotease-2 in indomethacin-induced acute gastric ulceration is blocked by melatonin and other antioxidants. *Free Radical Biology & Medicine* 2006; 41:911-25.
106. Kudriashov BA, Ammosova IaM, Liapina LA, Osipova NN, Azieva LD, Liapin GIu, Basanova AV. Heparin from the meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and its properties. *Izv Akad Nauk SSSR Biol* 1991; (6): 939-43.
107. Kudriashov BA, Liapina LA, Azieva LD. The content of a heparin-like anticoagulant in the flowers of the meadowsweet (*Filipendula ulmaria*). *Farmakol Toksikol* 1990; 53(4): 39-41.
108. Kupcinskas L, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* and non-malignant diseases. *Helicobacter*. 2005;10 Suppl 1:26-33.
109. Kwiecień S, Brzozowski T, Konturek PC, Pawlik MW, Pawlik WW, Kwiecień N, Konturek SJ. Gastroprotection by pentoxifylline against stress-induced gastric damage. Role of lipid peroxidation, antioxidizing enzymes and proinflammatory cytokines. *J Physiol Pharmacol*. 2004 Jun;55(2):337-55.
110. Kwiecien S, Pawlik MW, Sliwowski Z, Kwiecien N, Brzozowski T, Pawlik WW, Konturek SJ. Involvement of sensory afferent fibers and lipid peroxidation in the pathogenesis of stress-induced gastric mucosa damage. 2007, 58, supp. 3:149-162.
111. Kwiecien S., Brzozowski T. ir Konturek S.J.,. Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa in various models of mucosal injury. *J Physiol Pharmacol* 2002, 53, 39-50.
112. La Casa C, Villegas I, Alarcón de la Lastra C, Motilva V, Martín Calero MJ. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural

- flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J Ethnopharmacol* 2000 Jul;71(1-2):45-53.
113. Lamaison JL, C A, Petitjean-Freytet C,. Principal flavonoids of aerial parts of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. subsp. *ulmaria* and subsp. *denudata*. *Pharm Acta Helv* 1992; (67): 218-222.
 114. Lamaison, JL, Carnat A et al. Tannin content and inhibiting activity of elastase in Rosaceae. *Ann Pharm Fr* 1990; 48(6): 335-40.
 115. Laudanno OM, Cesolari JA, Esnarriaga J, San Miguel P, Bedini OA. In vivo selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs and gastrointestinal ulcers in rats. *Dig Dis Sci.* 2000 Jul;45(7):1359-65.
 116. Laurinavičienė A., Smaliukienė R.. *Histologinių technologijų vadovas*. Vilnius, 2007.
 117. Lembo A, Caradonna L, Magrone T, Mastronardi ML, Caccavo D, Jirillo E, Amati L. *Helicobacter pylori* infection, immune response and vaccination. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2001; 1(3): 199-208.
 118. Leonavičienė L, Bradūnaitė R, Vaitkienė D, Keturkienė A, Vasiliauskas A. Eksperimentinis osteoartritas ir jo gydymas augaliniais preparatais. *Gerontologija* 2008; 9(1): 34-48.
 119. Levenstein S, Ackerman S, Kiecolt-Glaser JK ir Dubois A. Stress and peptic ulcer disease. *Jama* 1999; (281): 10-11.
 120. Liapina LA, Koval'chuk GA. A comparative study of the action on the hemostatic system of extracts from the flowers and seeds of the meadowsweet (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.). *Izv Akad Nauk Ser Biol* 1993; (4): 625-8.
 121. Liu CF, Lin CC, Lin MH, Lin YS, Lin SC. Cytoprotection by propolis ethanol extract of acute absolute ethanol-induced gastric mucosal lesions. *Am J Chin Med* 2002; 30(2-3): 245-54.
 122. Longiave D, Omini C, Nicosia S, Berti F. The mode of action of aescin on isolated veins: relationship with PGF2 alpha. *Pharmacol Res Commun* 1978; 10(2): 145-52.
 123. Majus S. *Cheminių medžiagų ir preparatų ūmaus toksiškumo per virškinamąjį traktą nustatymo metodika* 1995; Vilnius, Lietuvos SAM.
 124. Maksimović Z, Petrović S, Pavlović M, Kovacević N, Kukić J. Antioxidant activity of *Filipendula hexapetala* flowers. *Fitoterapia* 2007; 78(3): 265-7.
 125. Maor I, Rainis T, Lanir A, Lavy A. Links Oxidative stress, inflammation and neutrophil superoxide release in patients with Crohn's disease: distinction between active and non-active disease. *Dig Dis Sci* 2008; 53(8): 2208-14.
 126. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1(8390): 1311-5.
 127. Masaki H, Sakaki S, Atsumi T, Sakurai H. Active-oxygen scavenging activity of plant extracts. *Biol Pharm Bull* 1995; 18(1): 162-6.

128. Mashimo M, Nishikawa M, Higuchi K, Hirose M, Wei Q, Haque A, Sasaki E, Shiba M, Tominaga K, Watanabe T, Fujiwara Y, Arakawa T, Inoue M. Production of reactive oxygen species in peripheral blood is increased in individuals with *Helicobacter pylori* infection and decreased after its eradication. *Helicobacter* 2006; 11(4): 266-71.
129. Matsuda H, Li Y, Murakami T, Ninomiya K, Yamahara J, Yoshikawa M. Effects of escins Ia, Ib, IIa, and IIb from horse chestnut, the seeds of *Aesculus hippocastanum* L., on acute inflammation in animals. *Biol Pharm Bull* 1997; 20(10): 1092-5.
130. McCafferty DM, Granger DN, Wallace JL. Indomethacin-induced gastric injury and leukocyte adherence in arthritic versus healthy rats. *Gastroenterology* 1995; 109(4): 1173-80.
131. Methlie CB, Schjott J. Horse chestnut--remedy for chronic venous insufficiency. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2009; 129(5): 420-2.
132. Meyer F, Wilson KT, James SP. Modulation of innate cytokine responses by products of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 2000; 68(11): 6265-72.
133. Morozov VP, Perelygin VG, Savranskiĭ VM, Shabunovich LV. Lipid peroxidation in the blood and tissues of patients with peptic ulcer (in Russian). *Klin Med* 1992; 70(2): 75-7.
134. Muresan A, Suciuc S, Mitrea D-R, Alb Camelia LC, Crisan D, Daicovicu D. Oxidative stress implications in experimental gastric ulcer induced by indomethacin. *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine* 65(1)/2008; pISSN 1843-5270; eISSN 1843-5378.
135. Nagata K, Yu H, Nishikawa M, Kashiba M, Nakamura A, Sato EF, Tamura T, Inoue M. *Helicobacter pylori* generates superoxide radicals and modulates nitric oxide metabolism. *J Biol Chem* 1998; 273(23): 14071-3.
136. Nair S, Norkus EP, Hertan H, Pitchumoni CS.: Micronutrient antioxidants in gastric mucosa and serum in patients with gastritis and gastric ulcer: does *Helicobacter pylori* infection affect the mucosal levels? *J Clin Gastroenterol* 2000; 30(4): 381-5.
137. Naito Y, Yoshikawa T, Yoshida N, Kondo M. Role of oxygen radical and lipid peroxidation in indomethacin-induced gastric mucosal injury. *Dig Dis Sci* 1998; 43(9 Suppl): 30S-34S.
138. Naito Y, Yoshikawa T. Molecular and cellular mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation and oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2002; 33(3): 323-36.
139. Nakatani N. Phenolic antioxidants from herbs and spices. *Biofactors* 2000; 13(1-4): 141-6.
140. Nardone G, Rocco A, Malfertheiner P. Review article: *Helicobacter pylori* and molecular events in precancerous gastric lesions. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20(3):261-70.
141. Newall CA, A L, Phillipson JD. *Herbal medicines: A Guide for HealthCare Professionals* 1996; London, The Pharmaceutical Press.

142. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001; 74(4): 418-25.
143. Nilsson UA, Schoenberg MH, Aneman A, Poch B, Magadum S, Beger HG, Lundgren O. Free radicals and pathogenesis during ischemia and reperfusion of the cat small intestine. *Gastroenterology* 1994; 106(3): 629-36.
144. Noach LA, Bosma NB, Jansen J, Hoek FJ, van Deventer SJ, Tytgat GN. Mucosal tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-8 production in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29(5): 425-9.
145. Ottillinger B, Greeske K. Rational therapy of chronic venous insufficiency--chances and limits of the therapeutic use of horse-chestnut seeds extract. *BMC Cardiovasc Disord* 2001; 1: 5.
146. Pan JS, He SZ, Xu HZ, Zhan XJ, Yang XN, Xiao HM, Shi HX, Ren JL. Oxidative stress disturbs energy metabolism of mitochondria in ethanol-induced gastric mucosa injury. *World J Gastroenterol* 2008; 14(38): 5857-67.
147. Papparella A, DeLuca FG, Oyer CE, Pinar H, Stonestreet BS. Ischemia-reperfusion injury in the intestines of newborn pigs. *Pediatr Res* 1997; 42(2): 180-8.
148. Peresun'ko AP, Bepalov VG, Limarenko AI, Aleksandrov VA. Clinico-experimental study of using plant preparations from the flowers of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim for the treatment of precancerous changes and prevention of uterine cervical cancer. *Vopr Onkol* 1993; 39(7-12): 291-5.
149. Phull PS, Green CJ, Jacyna MR. A radical view of the stomach: the role of oxygen-derived free radicals and anti-oxidants in gastroduodenal disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7(3): 265-74.
150. Phull PS, Price AB, Thorniley MS, Green CJ ir Jacyna MR. Plasma free radical activity and antioxidant vitamin levels in dyspeptic patients: correlation with smoking and *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998; (10): 573-578.
151. Piezzi RS, Guzman JA, Guardia T, Pestchanker MJ, Guerreiro E, Giordano OS. Dehydroleucodine prevents ethanol-induced necrosis in the mous duodenal mucosa. A histological study. *Biocell* 1995;19: Suppl 1: 27-33.
152. Pihan G, Regillo C, Szabo S. Free radicals and lipid peroxidation in ethanol- or aspirin-induced gastric mucosal injury. *Dig Dis Sci* 1987; 32(12): 1395-401.
153. Pittler MH, Ernst E. Horse-chestnut seed extract for chronic venous insufficiency. A criteria-based systematic review. *Arch Dermatol* 1998; 134(11): 1356-60.
154. Poukens-Renwart P, Tits M, Wauters JN, Angenot L. Densitometric evaluation of spiraeoside after derivatization in flowers of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. *J Pharm Biomed Anal* 1992; 10(10-12): 1085-8.

155. Rainsford KD. The role of aspirin in gastric ulceration . Some factors involved in the development of gastric mucosal damage induced by aspirin in rats exposed to various stress conditions. *Am J Dig Dis* 1978; 23(6): 521-30.
156. Ramarao N, Gray-Owen SD, Meyer TF. *Helicobacter pylori* induces but survives the extracellular release of oxygen radicals from professional phagocytes using its catalase activity. *Mol Microbiol* 2000; 38(1): 103-13.
157. Rauha JP, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kähkönen M, Kujala T, Pihlaja K, Vuorela H, Vuorela P. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *Int J Food Microbiol* 2000; 56(1): 3-12.
158. Rostom A, Wells G, Tugwell P, Welch V, Dube C, McGowan J. Prevention of NSAID-induced gastroduodenal ulcers. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; CD002296
159. Ryzhikov MA, Ryzhikova VO. Application of chemiluminescent methods for analysis of the antioxidant activity of herbal extracts. *Vopr Pitan* 2006; 75(2): 22-6.
160. Salim AS. The relationship between *Helicobacter pylori* and oxygen-derived free radicals in the mechanism of duodenal ulceration. *Intern Med* 1993; (32): 359-364.
161. Santra A, Chowdhury A, Chaudhuri S, Das Gupta J, Banerjee PK, Mazumder DN. Oxidative stress in gastric mucosa in *Helicobacter pylori* infection. *Indian J Gastroenterol* 2000; 19(1): 21-3.
162. Sato I, Kofujita H, Suzuki T, Kobayashi H, Tsuda S. Antiinflammatory effect of Japanese horse chestnut (*Aesculus turbinata*) seeds. *J Vet Med Sci* 2006; 68(5): 487-9.
163. Sato I, Suzuki T, Kobayashi H, Tsuda S. Antioxidative and antigenotoxic effects of Japanese horse chestnut (*Aesculus turbinata*) seeds. *J Vet Med Sci* 2005; 67(7): 731-4.
164. Schleyerbach R, Wedde H. Alterations in the gastro-intestinal functions during the development of adjuvant disease in rats. *Agents Actions* 1984; 15(3-4): 392-7.
165. Sculz E et al. *Rational phytotherapy* 1998; Berlin, Springer-Verlag.
166. Shilova IV, Zhavoronok TV, Suslov NI, Krasnov EA, Novozheeva TP, Veremeev AV, Nagaev MG, Petina GV. Hepatoprotective and antioxidant activity of meadowsweet extract during experimental toxic hepatitis. *Bull Exp Biol Med* 2006; 142(2): 216-8.
167. Shimoyama T, Crabtree JE. Bacterial factors and immune pathogenesis in *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1998; 43 Suppl 1: S2-5.
168. Sirtori CR. Aescin: pharmacology, pharmacokinetics and therapeutic profile. *Pharmacol Res* 2001; 44(3): 183-93.
169. Smith WL, Langenbach R. Why there are two cyclooxygenase isozymes. *J Clin Invest* 2001; 107(12): 1491-5.

170. Solon S, Lopes L, Teixeira de Sousa P Jr, Schmeda-Hirschmann G. Free radical scavenging activity of *Lafoensia pacari*. *J Ethnopharmacol* 2000; 72(1-2): 173-8.
171. Spiridonov NA, Konovalov DA, Arkhipov VV. Cytotoxicity of some Russian ethnomedicinal plants and plant compounds. *Phytother Res* 2005; 19(5): 428-32.
172. Sroka Z, Cisowski W, Seredyńska M, Luczkiewicz M. Phenolic extracts from meadowsweet and hawthorn flowers have antioxidative properties. *Z Naturforsch C* 2001; 56(9-10): 739-44.
173. Szapary PO, C M D. Tocotrienols in the management of hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Altern Med Alert* 2000; (3): 101-105.
174. Takeuchi K, Ueshima K, Hironaka Y, Fujioka Y, Matsumoto J, Okabe S. Oxygen free radicals and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats. Relation to gastric hypermotility. *Digestion* 1991; 49(3): 175-84.
175. Tandon R, Khanna HD, Dorababu M, Goel RK. Oxidative stress and antioxidants status in peptic ulcer and gastric carcinoma. *Indian J Physiol Pharmacol* 2004; 48(1): 115-8.
176. Thieme H. Isolation of a new phenolic glycoside from the blossoms of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. *Pharmazie* 1966; 21(2):123.
177. Thorén A, Jakob SM, Prادل R, Elam M, Ricksten SE, Takala J. Jejunal and gastric mucosal perfusion versus splanchnic blood flow and metabolism: an observational study on postcardiac surgical patients. *Crit Care Med* 2000; 28(11): 3649-54.
178. Tummala S, Keates S, Kelly CP. Update on the immunologic basis of *Helicobacter pylori* gastritis. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; 20(6): 592-7.
179. Tyler VE. *Herbs of Choice: The therapeutic use of phytomedicinals*. Binghamton, NY, Pharmaceutical Products Press 1994.
180. Ulbricht CE, B E M.. *Natural Standard herb & supplement reference: evidence-based clinical reviews* 2005; New York, Elsevier Mosby.
181. Vaananen PM, Meddings JB, Wallace JL. Role of oxygen-derived free radicals in indomethacin-induced gastric injury. *Am J Physiol* 1991; 261(3 Pt 1): G470-5.
182. Vainštein SG, Zverščanovskij FA, Grivenko GP. *Terapevtičeskij Archiv* 1987; 12: 26-28.
183. Valcheva-Kuzmanova S, Marazova K, Krasnaliev I, Galunska B, Borisova P, Belcheva A. Effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2005; 56(6): 385-92.
184. Vasiliauskas A, Keturkienė A, Vaitkiene D, Leonaviciene L. An improved model of gastric mucosal lesions in rats and their therapy with herbal tinctures. *Baltic Journal of Laboratory Animal Science* 2002; 12(1-2): 57-61.

185. Villegas I, Martín MJ, La Casa C, Motilva V, De La Lastra CA. Effects of oxicam inhibitors of cyclooxygenase on oxidative stress generation in rat gastric mucosa. A comparative study. *Free Radic Res* 2002; 36(7): 769-77.
186. Wei F, Ma SC, Ma LY, But PP, Lin RC, Khan IA. Antiviral flavonoids from the seeds of *Aesculus chinensis*. *J Nat Prod* 2004; 67(4): 650-3.
187. Whittle BJ. Temporal relationship between cyclooxygenase inhibition, as measured by prostacyclin biosynthesis, and the gastrointestinal damage induced by indomethacin in the rat. *Gastroenterology* 1981; 80(1): 94-8.
188. Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR. Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction. *Br Med Bull* 1993; 49(3): 506-22.
189. Yoshikawa T, Naito Y. The role of neutrophils and inflammation in gastric mucosal injury. *Free Radic Res* 2000; (33): 785-794.
190. Yoshikawa T, Naito Y, Kishi A, Tomii T, Kaneko T, Inuma S, Ichikawa H, Yasuda M, Takahashi S, Kondo M. Role of active oxygen, lipid peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats. *Gut* 1993; 34(6): 732-7.
191. Yoshikawa T, Ueda S, Naito Y, Takahashi S, Oyamada H, Morita Y, Yoneta T, Kondo M. Role of oxygen-derived free radicals in gastric mucosal injury induced by ischemia or ischemia-reperfusion in rats. *Free Radic Res Commun* 1989; 7(3-6): 285-91.
192. Yuan Y, Hunt RH. Treatment of nonNSAID and non-H, pylori gastroduodenal ulcers and hypersecretory states. In *Therapy of digestive disorders*, edn 2, 315-336 (Eds Wolfe MM et al.) London, UK: Elsevier. 2006.
193. Yuan Y, Padol IT, Hunt RH. Peptic ulcer disease today. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3(2): 80-9.
194. Zayachkivska OS, Konturek SJ, Drozdowicz D, Konturek PC, Brzozowski T, Ghegotsky MR. Gastroprotective effects of flavonoids in plant extracts. *J Physiol Pharmacol* 2005; 56 Suppl 1: 219-31.
195. Zeylstra H. *Filipendula ulmaria*. *Br J Phytother* 1998; (5): 8-12.

8. DISERTACIJOS TEMA SPAUSDINTŲ DARBŲ SĄRAŠAS

Straipsniai recenzuojamuose tarptautiniuose ir užsienio leidiniuose

1. **Vasiliauskas A**, Keturkiene A, Vaitkienė D, Leonavicienė L. An improved model of gastric mucosal lesions in rats and their therapy with herbal tinctures. **Baltic Journal of Laboratory Animal Science**, 2002, vol. 12, (1-2):57-61.

Straipsniai Lietuvos recenzuojamuose periodiniuose leidiniuose

2. **Vasiliauskas A**, Keturkienė A, Leonavičienė L, Vaitkienė D. Influence of Aesculus hippocastanum (L.) tincture in vitro on the indices of reactive oxygen species of gastric tissue in rats with indomethacin-induced ulcers in adjuvant arthritis. **Biologija**, 2004, 2(2 priedas):62-66.
3. **Vasiliauskas A**, Keturkienė A, Leonavičienė L, Vaitkienė D. Influence of Herb Filipendula ulmaria (L.) Maxim Tincture on Pro-/antioxidant Status in Gastric Tissue with indomethacin-induced Gastric Ulcer in Rats. **Acta Medica Lithuanica**, 2004, vol. 11, 1:31-36.
4. **Vasiliauskas A**, Irnius A, Leonavičienė L, Vaitkienė D. Kraujo serumo ir gleivinės pro/antioksidantinės sistemos rodikliai ligoniams sergantiems lėtiniu gastritu ir opalige. **Gerontologija**, 2009, vol. 10, 4: 223-237.
5. **Vasiliauskas A**, Irnius A, Leonavičienė L, Bradūnaitė R, Venalis A. Augalinių tinktūrų pro/antioksidacinio aktyvumo įvertinimas gastroduodeninės sritys gleivinės audinyje sergantiems skrandžio ir dvylikapirštės žarnos opomis. **Visuomenės sveikata**, 2009, 19(6):2811-2816.

Straipsniai, nesusiję su disertacijos medžiaga

6. Leonavičienė L, Vaitkienė D, Keturkienė A, Bradūnaitė R, **Vasiliauskas A**. Eksperimentinis osteoartritas ir jo gydymas augaliniais preparatais. **Gerontologija 2008**: 9(1): 34-48.
7. Leonavičienė L, Bradūnaitė R, Vaitkienė D, **Vasiliauskas A**, Keturkienė A. Collagen-Induced Arthritis and Pro-/Antioxidant Status in Wistar and Lewis Rats. **Biologija 2008**: 54(4): 290-300.
8. Leonavičienė L, Bradūnaitė R, **Vasiliauskas A**, Vaitkienė D, Venalis A. Development of autoimmune process in rats immunized with influenza vaccine. **Acta Medica Lituanica 2009**; 16(1): 17-28.

Konferencijų medžiaga

1. **Vasiliauskas A**, Keturkienė A, Leonavičienė L, Vaitkienė D. Paprastojo kaštono tinktūros poveikis in vitro deguonies laisvųjų radikalų radikalų rodikliams skrandžio audinyje sukėlus indometacinu opaligę žiurkėms adjuvantinio artrito metu. VIII suvažiavimas-konferencija **Biochemija mokslų sandūroje. Abstraktai**. Toliaja, Birželio 18-20. 2004:103.

2. **Vasiliauskas A.** Herbal Mixture influence of damaged gastroduodenal mucosa by nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) in patients with osteoarthritis (OA). **The 3rd Baltic conference of Rheumatology. Abstracts.** Riga, 8-10 Dec, 2006:II-4.
3. Keturkienė A, **Vasiliauskas A**, Jasiulevičiūtė L, Butkienė B, Leonavičienė L, Vaitkienė D. Filipendula Ulmaria (L.) Maxim (FU) tincture preclinical data assessment for the treatment of Osteoarthritis and Rheumatoid arthritis patients. **The 3rd Baltic conference of Rheumatology. Abstracts.** Riga, 8-10 Dec, 2006:VIII-4.

PADĖKA

Dėkoju už nuoširdų palaikymą ir suteiktas galimybes ruošiant šį darbą Direktoriui Prof., habil. dr. Algirdui Venaliui, Prof., dr. Jolantai Dadonienei, moksl. sekr. Dr. Birutei Butkienei.

Nuoširdžiai dėkoju darbo vadovui Prof., habil. dr. Algimantui Irniui už mokslines idėjas, vertingus patarimus ir begalinį rūpestį.

Nuoširdžiai dėkoju buvusiai Biochemijos laboratorijos vedėjai Dr. Aldonai Keturkienei, pastūmėjusiai tirti augalinius preparatus, atskleidusiai biochemijos mokslo žavesį.

Nuoširdžiai dėkoju eksperimentinių tyrimų laboratorijos darbuotojoms Dr. Daliai Vaitkienei už pagalbą atliekant tyrimus ir Dr. Laimai Leonavičienei už pagalbą, palaikymą, patarimus ir įkvėpimą ruošiant šį darbą.

Nuoširdžiai dėkoju kolegėms Dianai Venslauskienei ir Galinai Černych už palaikymą, pagalbą ir gerą nuotaiką kasdienybės rūpesčiuose.

Nuoširdžiai dėkoju visiems draugams, pažįstamiems ir artimiesiems, palaikiusiems mokslo kelyje.