

А.А. Сухомлин, Т.В. Берегова, К.С. Непорада

Зміни NO-ергічної системи слинних залоз в умовах омепразоліндукованої гіпергастринемії

На експериментальній моделі омепразоліндукованої гіпергастринемії досліджено активність NO-синтази і концентрацію кінцевих продуктів метаболізму оксиду азоту – NO_2^- у слинних залозах щурів. Варто відмітити підвищення активності NO-синтази, яка сягала максимуму на 14-ту добу: $(7,61 \pm 0,39)$ мкмоль $[NO_2^-]/(г \cdot хв)$. Надалі вона знизилась і на 28-му добу введення становила $(5,76 \pm 0,25)$ мкмоль $[NO_2^-]/(г \cdot хв)$. Отримано достовірне підвищення активності NO-синтази і накопичення NO_2^- в слинних залозах щурів в умовах тривалої гіпергастринемії. Ключові слова: слинні залози, омепразол, гіпергастринемія, NO-синтаза, оксид азоту, нітрити.

ВСТУП

Для лікування кислотозалежних захворювань шлунково-кишкового тракту широко застосовуються інгібітори протонної помпи: омепразол, лансопразол тощо, які знижують шлункову секрецію через незворотне інгібування H^+-K^+-ATF ази, що призводить до гіпоацидитету, і як наслідок – гіпергастринемії [11]. Остання також спостерігається при розвитку пухлин секретованих гастрином, наприклад, при синдромі Золінгера–Елісона. Механізм дії гастрину, як і більшості пептидних гормонів мембранно-внутрішньоклітинний. У разі зв'язування його з гастрин/холецистокініновим рецептором типу В на мембрані паріетальних клітин слизової оболонки шлунка, підвищується вміст в клітині Ca^{2+} та, як наслідок, до підвищення активності H^+-K^+-ATF ази. Гастрин стимулює вивільнення тканинними базофілами гістаміну, який через гістамінові H_2 -рецептори підвищує вміст цАМФ у паріетальній клітині та активність протонної помпи.

Нині дослідники приділяють велику увагу ролі NO в розвитку багатьох захворювань. Відомо, що він виконує месенджерну функцію, тому дослідження NO-

ергічної системи слинних залоз за умов гіпергастринемії є досить актуальним [7]. NO є основним ендогенним вазодилатором. Після зв'язування ацетилхоліну з рецепторами на мембранах ендотеліоцитів у цих клітинах синтезується NO, який мігрує у гладеньком'язові клітини (ГМК) і активує синтез цГМФ, що викликає їх розслаблення. Аналогічний механізм впливу NO на ГМК шлунково-кишкового тракту. Фізіологічним регулятором перистальтики останнього є бактеріальна флора кишечника. Компоненти мембран клітин бактерій – ліпополісахариди активують NO-синтазу безпосередньо у м'язовій клітині. NO відіграє важливу роль в імунному захисті організму, проявляючи цитотоксичну дію. Інфікування організму бактеріями, вірусами призводить до активації макрофагів (збільшується вміст лізосом), а також гідролітичних ферментів, пероксидаз, каталази [1, 3]. З одного боку, ця сполука є попередником канцерогенних N-нітрозосполук, а з іншого – бере участь разом з факторами, що стимулюють ріст, та тирозиновими протеїнкіназами у процесах проліферації клітин. Однак надлишкова продукція NO призводить до пошкодження та некрозу різних клітин.

© А.А. Сухомлин, Т.В. Берегова, К.С. Непорада

Метою нашого дослідження було вивчення змін NO-ергічної системи слинних залоз щурів за умов довготривалого введення омепразолу.

МЕТОДИКА

Експерименти виконані на 26 щурах-самцях лінії Вістар масою 180–250 г з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією. Тварин утримували на звичайному раціоні в стандартних умовах віварію. Евтаназію здійснювали під уретановим наркозом. Дослідним тваринам протягом 7, 14, 21, 28 діб внутрішньо-очеревинно вводили омепразол (“Sigma”, США) у дозі 14 мг/кг, а контрольним – 0,2 мл води для ін’єкцій. У гомогенаті слинних залоз визначали активність NO-синтази [КФ 1.14.13.19] і вміст NO_2^- [9]. Після завершення експерименту збирали кров для визначення вмісту гастрину радіоімуннологічним методом за допомогою аналітичного набору “MP Biomedicals, LLC” (США). Результати досліджень обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами встановлено, що вміст гастрину в плазмі крові щурів контрольної групи на 28-му добу становив $59,0 \text{ пг/мл} \pm 35,5 \text{ пг/мл}$, тоді як у дослідних тварин – $170,7 \text{ пг/мл} \pm 90,7 \text{ пг/мл}$ ($P < 0,05$). Таким чином, тривале введення омепразолу викликає гіпергастринемію.

Результати досліджень (таблиця) свідчать про те, що в умовах омепразоліндукованої гіпергастринемії в слинних залозах щурів підвищувалась активність NO-синтази, сягаючи максимуму на 14-ту добу: $(7,61 \pm 0,39) \text{ мкмоль}[\text{NO}_2^-]/(\text{г} \cdot \text{хв})$. Надалі вона дещо знизилась і на 28-ту добу була $(5,76 \pm 0,25) \text{ мкмоль}[\text{NO}_2^-]/(\text{г} \cdot \text{хв})$, що в 1,45 раза вище, ніж у контрольних щурів.

Наявність NO-синтазного механізму забезпечує ендогенний синтез NO, іонів NO_2^- та NO_3^- , а наявність нітритредуктазних систем створює умови для того, щоб цей ланцюг функціонував як замкнений цикл і NO_2^- та NO_3^- могли б відновлюватися до NO. Циклічність зв’язків між окремими сполуками забезпечує більш високу швидкість їх перетворення та зменшення токсичного впливу на клітини внаслідок накопичення окремих продуктів. Це актуально у випадку з такою високореакційною та вільнорадикальною сполукою, як NO та його метаболіти. Важливу роль у відновленні NO_2^- відіграє дезоксигемоглобін. У тканинах відновлення NO_2^- відбувається у мітохондріях і мікросомах. У перших нітритредуктазну активність має цитохром-оксидаза, а у других – цитохром P-450. Фізико-хімічні властивості NO, а саме невеликі розміри та відсутність заряду, не дають змоги ізолювати оксид азоту (II), створити депо у вигляді мембранних структур як у випадку з Ca^{2+} . Але змінюючи валентність азоту під час окисно-відновних реакцій, можна ефективно регулювати концентрацію високореакційних метаболітів у клітині [8, 10].

Активність NO-синтази та вміст нітритів у тканинах слинних залоз щурів за умов гіпергастринемії ($M \pm m$)

Групи тварин	Активність NO-синтази, мкмоль $[\text{NO}_2^-]/(\text{г} \cdot \text{хв})$	Вміст нітритів, мкмоль $[\text{NO}_2^-]/\text{г}$
Контроль (n=5)	$3,97 \pm 0,11$	$0,164 \pm 0,007$
Омепразол		
7 діб (n=5)	$6,49 \pm 0,37^*$	$0,198 \pm 0,004^*$
14 діб (n=5)	$7,61 \pm 0,39^*$	$0,206 \pm 0,003^*$
21 доба (n=5)	$7,48 \pm 0,18^*$	$0,208 \pm 0,005^*$
28 діб (n=6)	$5,76 \pm 0,25^*$	$0,194 \pm 0,006^*$

* $P < 0,05$ порівняно з контролем.

З таблиці видно, що в умовах омепразоліндукованої гіпергастринемії в слинних залозах щурів підвищується вміст NO_2^- . Максимум (в 1,27 раза) порівняно з контролем спостерігався на 21-шу добу. Це свідчить про накопичення метаболітів NO у тканинах слинних залоз і підвищення резервів синтезу NO за рахунок нітритредуктазних систем.

Таким чином, в умовах тривалої омепразоліндукованої гіпергастринемії підвищували активність NO-ергічної системи в тканинах слинних залоз щурів, а також в слинних залозах накопичувались NO_2^- – метаболіт циклічних перетворень оксиду азоту та можливий субстрат для синтезу NO за рахунок нітритредуктазних систем. Максимальна активність NO-синтази спостерігалася на 14-ту добу, а вміст NO_2^- сягав максимального значення на 21-шу добу. NO_2^- надалі може бути субстратом для синтезу NO, що є альтернативою NO-синтазній реакції.

А.А. Сухомлин, Т.В. Береговая, К.С. Непорада

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ NO-ЭРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОМЕПРАЗОЛИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПЕРГАСТРИНЕМИИ

На экспериментальной модели омепразолиндуцированной гипергастринемии изучены активность NO-синтазы и концентрация конечных продуктов метаболизма оксида азота – NO_2^- в слюнных железах крыс. Следует отметить повышение активности NO-синтазы, которая достигала максимума на 14-е сутки: $(7,61 \pm 0,39)$ мкмоль $[\text{NO}_2^-]/(\text{г} \cdot \text{мин})$, а в дальнейшем составила $(5,76 \pm 0,25)$ мкмоль $[\text{NO}_2^-]/(\text{г} \cdot \text{мин})$. Получено достоверное повышение активности NO-синтазы и накопление NO_2^- в слюнных железах крыс в условиях длительной гипергастринемии.

Ключевые слова: слюнные железы, омепразол, гипергастринемия, NO-синтаза, оксид азота, нитриты.

A.A. Sukhomlyn, T.V. Beregova, K.S. Naporada

CHANGES OF THE ACTIVITY OF NO-SYNTASE IN SALIVARY GLANDS

*ВДНЗ України “Укр. мед. стомат. академія”, Полтава;
Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка*

OF RATS UNDER CONDITIONS OF OMEPRAZOLE-INDUCED HYPERGASTRINEMIA

Under conditions of omeprazole-induced hypergastrinemia the activity of NOS and the concentration of NO_2^- , the end product of metabolism of nitric oxide were studied in salivary glands of rats. We detected an increase in NOS activity, reaching a maximum $(7,61 \pm 0,39)$ mmol $[\text{NO}_2^-]/(\text{g} \cdot \text{min})$ at 14th day of the experiment. At 28th day following omeprazole introduction its activity was $5,76 \pm 0,25$ mmol $[\text{NO}_2^-]/(\text{g} \cdot \text{min})$.

Key words: salivary glands, omeprazole, hypergastrinemia, NO-synthase, NO, nitrites.

*Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava
Taras Shevchenko National University, Kyiv*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Голиков П.П., Николаев Н.Ю., Гавриленко И.А. Оксид азота и перекисное окисление липидов как фактор эндогенной интоксикации при неотложных состояниях // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2000. – № 2 – С. 6–9.
2. Денисов А.Б. Слюнные железы. Слюна. Часть 2 Методы моделирования физиологических и патологических процессов. – М.: Изд-во РАМН, 2003. – 60 с.
3. Мещишен І.Ф., Пішак В.П., Григор'єва Н.П. Біомолекули: структура та функції. – Чернівці: Медик, 1999. – 149 с.
4. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., В.Е. Охотин В.Е., Косицин Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. – М.: Наука, 1998. – 159 с.
5. Сукманский О.И. Биологически активные вещества слюнных желез. – К.: Здоровье, 1991. – 112 с.
6. Тарасенко Л.М., Суханова Г.А., Мищенко В.П., Непорада К.С. Слюнные железы (биохимия, физиология, клинические аспекты). – Томск: Изд-во НТЛ, 2002. – 124 с.:ил.
7. Ткаченко М.М. Оксид азоту та судинна регуляція (огляд літератури) // Журн. АМН України. – 1997. – 3, №2. – С. 241–254.
8. Asanuma K., Iijima K., Sugata H. Diffusion of cytotoxic concentrations of nitric oxide generated luminally at the gastro-oesophageal junction of rats // Gut. – 2005. – 54. – P.1072–1077.
9. Hevel J.M. Purification of the inducible murene macrophage nitric oxide synthase // J. Biol. Chem. – 1991. – 266, №34. – P. 22.
10. Lowenstein C.J., Snyder S.H. Nitric oxide, a novel biologic messenger // Cell. – 1992. – 70. – P. 705–707.
11. Olbe L., Cederberg C., Lind T., Olausson M. Effect of omeprazole on gastric acid secretion and plasma gastrin in man // Scand J.Gastroenterology. – 1989. – 24 (suppl. 166). – P.27–32.
12. Pal Pacher, Joseph S. Beckman, Lucas L. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease // Physiol. Rev. – 2007. – 87. – P.315–424.

*Матеріал надійшов до
редакції 03.08.2010*