

УДК 577.391:3116

СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО УЛЬЦЕРОГЕНЕЗУ

Вишнеvsька А.Г., Ковальова В.А., Гайда Л.М., Остапченко Л.І.

ННЦ «Інститут біології» (біологічний факультет Київського національного університету імені Тараса Шевченка), Київ, Україна
e-mail: alina.vishnevsk@gmail.com

Надійшла до редакції 04.05.2011

Було проведено дослідження стану антиоксидантної системи клітин підшлункової залози за умов етанолової та стресової експериментальних моделей виразки шлунка у щурів. Встановлено зниження активності супероксиддисмутази та каталази, та підвищення активності глутатіонтрансферази та глутатіонпероксидази.

Ключові слова: виразка шлунка, підшлункова залоза, антиоксидантна система.

ВСТУП

Як свідчить статистика, за останні роки рівень поширеності патологій шлунково-кишкового тракту в Україні зріс більш ніж на 24%, а рівень захворюваності — на 8,7%. Ерозивно-виразкові захворювання гастродуоденальної зони найбільш часто зустрічаються у терапевтичній та гастроентерологічній практиці, а захворюваність виразковою хворобою шлунка та ДПК також виявляє тенденцію до росту, що привернуло увагу медичної спільноти до цієї проблеми [1].

У зв'язку з поширеністю захворювання, труднощами діагностики, тяжкістю можливих ускладнень, складнощами профілактики і лікування виразкової хвороби варто розглядати як одну з найбільш актуальних проблем сучасної гастроентерології.

Виразкова хвороба шлунка – це хронічне, циклічне захворювання, в основі якого лежить запалення слизової оболонки шлунка, погіршення кровопостачання та утворення виразок у періоди загострення.

Необхідно розглядати виразкову хворобу з позицій системних захворювань, в основі яких лежить ураження всіх органів системи травлення, а також нервової, гуморальної, імунної та інших систем організму.

Ураження печінки й підшлункової залози при виразковій хворобі шлунка й дванадцятипалої кишки практично не визначаються методами клінічно-лабораторної діагностики, в той час як морфологічні зміни в цих органах розвиваються вже на ранніх стадіях захворювання [3]. Гістологічно було доведено залучення підшлункової залози до процесів ультрогенезу. Тому необхідне більш детальне вивчення процесів, що відбуваються у підшлунковій залозі за умов розвитку виразки шлунка

Виразкова хвороба шлунка належить до патологій, які супроводжуються процесами активації

перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), гіперпероксидації[4].

Активация процесів вільнорадикального окиснення ліпідів супроводжується накопичення продуктів ПОЛ, що пошкоджують структури мембран епітеліальних клітин слизової оболонки шлунка та впливають на стан вбудованих у них мембранних комплексів [5].

Внаслідок активації процесів пероксидації змінюється білково-ліпідне співвідношення, що спричиняє структурно-функціональні зміни у клітині.

Вважається, що порушення динамічної рівноваги в системі ПОЛ –антиоксидантна активність є важливою патогенетичною ланкою в розвитку виразкової хвороби, хоча не можна виключити й те, що воно може бути і її наслідком. Загальна система регуляції гомеостазу організму охоплює всі рівні фізіологічної організації біологічної системи, й тому важко виявити місце локалізації порушення, яке в подальшому призводить до виразки шлунка [6].

До числа антиоксидантних ферментів відносяться супероксиддисмутаза (СОД), що інактивує супероксидний аніон-радикал; каталаза, що каталізує реакцію розкладу пероксиду водню H_2O_2 , а також ферменти системи глутатіону (Г-SH): глутатіонпероксидаза (ГПО), що каталізують розпад поряд з H_2O_2 також органічних (ліпідних) перекисів, глутатіонредуктаза (ГР), що відновлює глутатіон, окиснений у ході ферментативних (ГПО) і неферментативних реакцій, і сімейство глутатіонтрансфераз (ГТ), що алкілюють глутатіоном різноманітні токсичні метаболіти [7].

В результаті наших попередніх досліджень було встановлено зростання рівня продуктів ПОЛ (шифових основ, малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів) у клітинах підшлункової залози за умов експериментальної виразки шлунка. Такі результати

можуть свідчити про зниження активності антиперекисних систем.

Метою даної роботи було визначити активність антиоксидантних ферментів (СОД, каталази та ферментів системи глутатіону) в клітинах підшлункової залози щурів за умов етанолової та стресової експериментальних моделей виразки шлунка у щурів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах, віком 2-3 місяці вагою близько 200 г. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію. За добу проведення дослідів щури мали доступ лише до води. Для моделювання виразки шлунка було обрано стресову та етанолову моделі. Стресову виразку шлунка створювали методом “соціального іммобілізаційного стресу” в модифікації [8]. Щурів розміщували в металевих перфорованих патронах з скляним вікном в донній частині, де розміщується голова щура. Патрони з тваринами розташовували в колонії вільноживучих щурів, яким створювали умови для їх природного існування (освітлення, вода, корм). Через 24 години щурів виймали з патронів та декапітували. Етанолові нейродистрофічні ураження слизової оболонки шлунка отримували за методом Окабе [9]. Для цього голодним щурам перорально

вводили 1 мл 80% етанолу, через добу тварин декапітували. Як контроль використовували здорових щурів. Розрізали шлунок по малій кривизні, вивертати назовні, промивали фізіологічним розчином, за допомогою гастроскопу при трансліюмінаційному освітленні досліджували стан слизової оболонки шлунка.

Активність СОД та каталази визначали спектрофотометрично за методами [10] та [11]. Активність глутатіонпероксидази (ГП) визначали за кількістю непрореагуваного з перекисом водню окисненого глутатіону, вміст якого визначали за допомогою реактива Елмана [12]. Активність глутатіонтрансферази (ГТ) оцінювали за швидкістю утворення кон'югату з 1-хлор-2,4-динітробензолом [13]. Активність всіх ферментів перераховували на мг білку. Статистичну обробку результатів проводили використовуючи t-критерій Ст'юдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В результаті наших досліджень активність каталази в клітинах підшлункової залози при етаноловій моделі виразки знижується у 1,9 рази. При ерозивно-виразкових ушкодженнях слизової викликаних стресом активність СОД і каталази клітин підшлункової залози знижується у 1,3 та у 1,7 рази відповідно (табл. 1).

Таблиця 1

Активність СОД та каталази у клітинах підшлункової залози за умов експериментального ультрогенезу
($M \pm n$; $n = 10$)

Групи тварин	СОД, ум. од. активності	Каталаза, нмоль/мг білка · хв.
Контроль	29,5 ± 2,4	8,56 ± 0,79
Етанолова модель	24,7 ± 2,3	4,53 ± 0,39*
Стресова модель	23,0 ± 1,8*	5,01 ± 0,45*

* $p < 0,05$ щодо контролю

Отже при етаноловій моделі виразки шлунка у клітинах підшлункової залози спостерігається зниження активності каталази при збереженні активності СОД на рівні контролю, що може призводити до надлишкового накопичення продуктів ПОЛ, так як перекис водню, продукований в наслідок ферментативної реакції, яку каталізує СОД, не може повністю розщеплюватись, тому що активність каталази знижена, порівняно з контролем.

Проведено дослідження активності ферментів системи глутатіону. Глутатіонзалежні ферменти, такі як глутатіонтрансфераза є ключовими у механізмах захисту клітин від екзогенних та ендогенних токсичних сполук та вільних радикалів, які виникають у відповідь на пошкодження клітини. Узгоджена робота глутатіонпероксидази ті глутатіонтрансферази попереджує у подальшому прогресування пероксидації, накопичення вторинних метаболітів.

Встановлено, підвищення активності ГП у 1,5 рази за умов етанолової моделі, та у 1,7 рази за умов стресової виразки шлунка (табл. 2). Це може бути пов'язано з виснаженням компенсаторних реакцій, направлених на нормалізацію процесів перекисного окиснення ліпідів та білків.

Відновлення перексиду водню та органічних гідроперексидів – це головна функція глутатіонпероксидази. Однак, треба зауважити, що метаболізуючи ROOH, глутатіонпероксидаза може попереджувати накопичення вторинних продуктів пероксидації, але вона не здатна знешкодити їх на відміну від глутатіонтрансферази. Глутатіонтрансфераза успішно метаболізує шляхом кон'югації з GSH вторинні метаболіти.

Глутатіонтрансфераза – універсальний фермент, який шляхом трансформації нековалентних взаємодій та ковалентного зв'язування запобігає пошкодженню ДНК та мітохондрій від реактивних метаболітів і в результаті значно збільшують стійкість клітин і організму в цілому.

Нами було встановлено зростання активності ГТ у 1,5 рази у клітинах підшлункової залози за умов етанолової моделі виразки шлунка.

Зростання активності ГТ можна розглядати як адаптаційну реакцію, направлену на посилення зв'язування токсичних сполук, що утворюються внаслідок дії активних радикалів.

Таблиця 2

Активність ферментів системи глутатіону (ГП, ГТ) у цитозолі клітин підшлункової залози щурів за умов експериментальної виразки (M±m, n=10)

Групи тварин	Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSSG/ мг білка *хв	Глутатіонтрансфераза, нмоль GSSG/ мг білка *хв
Контроль	2,1±0,2	86,5 ±11
Етанолова модель	3,2±0,3*	133,3±10*
Стрессова модель	3,6±0,4*	88,5±14

*p<0,05 щодо контролю

Таким чином, встановлено зміну активності антиоксидантних ферментів порівняно з контролем у клітинах підшлункової залози за умов етанолової та стрессової експериментальних моделей виразки шлунка у щурів.

ВИСНОВКИ

Отримані результати свідчать про те, що за умов експериментальної виразки шлунка відбувається порушення функціонування антиоксидантної системи, що призводить до надлишкового утворення продуктів перекисного окиснення.

Література

1. *Свінцицький А.С.* Діагностика та лікування поширених захворювань органів травлення // Київ, ТОВ «ДЕГ ЛТД». – 2004. – 240 с.
2. *Ostrovskii VK, Makovkin VV, Gerasimov VN.* Pancreatic tissue heterotopy in the stomach of a patient with complications due to peptic ulcerative disease - *Arkh Patol.* 2008 Mar-Apr;70(2):47-8.
3. *Sipponen P.* Peptic ulcer disease // *Gastrointestinal and oesophageal pathology* // Ed. by R. Whitehead: 2nd ed. London: Churchill Livingstone, 1995. – P. 512-523.
4. *Щербинина М.Б.* Язвенная болезнь: современный взгляд на вопросы патогенеза // *Діагностика та лікування.* – 2005. – С.2-13.
5. *Зверихановский Р.А., Вайнштейн С.Г.* Свободнорадикальное окисление липидов и антиоксидантная система в патогенезе гастродуоденальных изъязвлений (обзор) // *Врачебное дело.* — 1987. — № 9. — с. 42-47.
6. *Dean Roger T., Fu Schanlin, Stroker R.D.M.* Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation // *Biochem.j.* — 1997. — 324, № 1. — P.1-18.
7. *Frei B., Stocker R., Ames B.N.* (1988) Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1988. — 85. — P. 9748-9752.
8. *Гройсман С.Д., Карезина Т.Г.* О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс // *Библ. Указ. ВИНТИ. Деп. Рукописи.*- 1979.-№12.- Б/о 131.
9. Доклінічні дослідж. лік. засобів: Метод. рекомендації За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стефанова. // К., 2001. 528 с.
10. *Чевари С., Андел Т., Штрэнгер Я.* Определение антиоксидантных параметров и их диагностическое значение в пожилом возрасте // *Лаб.дело.*- 1991.-№10.-С.9-13.
11. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г.* Метод определения активности каталазы // *Лаб.дело.*- 1988.-№1.- С.16-19.
12. *Геруш І.В., Мецишен І.В.* Стан глутатіонової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настоянки ехінацеї пурпурової // *Вісн. проблем біології та медицини.* — 1998. — № 7. — С. 10-15.
13. *Мецишен І.Ф.* Метод определения активности глутатионтрансферазы в крови. — В кн.: *Применение ферментов в медицине.* — Симферополь, 1987. — 35 с.

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ УЛЬЦЕРОГЕНЕЗЕ

Вишнеvsька А.Г., Ковалева В.А., Гайда Л.М., Остапченко Л.І.

Было проведено исследование состояния антиоксидантной системы клеток поджелудочной железы крыс при экспериментальном ulcerогенезе. Установлено снижение активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы, и возрастание активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы.

Ключевые слова: язва желудка, поджелудочная железа, антиоксидантная система.

ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE PANCREATIC CELLS UNDER EXPERIMENTAL ULCERATION IN RATS

Vyshnevskaya A., Kovalyova V., Gaida L., Ostapchenko L.

It was examined antioxidant system of the pancreatic cells under experimental ulceration in rats. It was determined decrease of antioxidant enzymes activity – SOD and catalase, and increased activity of glutathionperoxidase and glutathionreductase.

Key words: antioxidant system, gastric ulcer, pancreas.