

complex and ultrastructural changes of morphology and morphometry of cells, characteristic for the found out effect are shown.

Keywords: submillimeter waves; time-pulse modulation; apoptosis; behavioral reactions; sperm; mitochondrial complex; effect.

УДК 616.316-092.9:615.916'175

© Стасюк О.А., Костенко В.О., 2012.

ВПЛИВ ПЕКТИНУ ТА ПЕКТИНОВІСНИХ ПРОДУКТІВ НА ОКИСНЮВАЛЬНІ ПРОЦЕСИ У ТКАНИНАХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ СПІЛЬНОГО НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ НІТРАТУ ТА ФТОРИДУ НАТРІЮ

Стасюк О.А., Костенко В.О.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава.

Ключові слова: пектин, інтоксикація нітратом натрію, інтоксикація фторидом натрію, слинні залози, оксид азоту, вільнорадикальне окиснення.

За оцінками науковців, у аграрно-промислових регіонах України значною проблемою є комбінована дія на організм людини та тварин неорганічних азотовмісних сполук та фторидів, що супроводжується випадками гострих та хронічних нітратно-нітритних інтоксикацій та ендемічного флюорозу [1]. Інтерес викликає дослідження, насамперед, механізмів метаболічних змін у слинних залозах (СЗ), оскільки останні тісно взаємопов'язані з іншими відділами травлення, органами серцево-судинної, видільної систем тощо [4].

Показано, що 30-денне введення фториду натрію поряд з нітратом натрію змінює характер реагування у тканинах СЗ конкурентних NO-синтазних і аргіназних шляхів метаболізму L-аргініну: типове для ізольованого призначення нітрату натрію пригнічення активності сумарних NO-синтаз змінюється на їх гіперактивізацію, активність орнітиндекарбоксилази суттєво зменшується, порушується механізм ауторегуляції рівню NO в організмі, відомий як “цикл оксиду азоту” [6]. Можна припустити здатність фторид-іонів втручатися у функціонування останнього через пригнічення альтернативного щодо NO-синтазного – аргіназного (неокисного) шляху метаболізму L-аргініну [15].

В останні роки виявлена здатність пектинів значно знижувати всмоктування фторидів [2] та нітратів [9]. Введення в раціон харчування лабораторних тварин пектину та пектинвмісних харчових продуктів (борошна вівсяної та перлової крупи) знижує концентрацію нітратів та інших нітросполук у сечі [9, 14]. Проте вплив пектинових речовин на метаболізм у тканинах СЗ за умов сполученої дії нітрату та фториду натрію не досліджувався.

Мета роботи. З'ясувати стан NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну та окиснювальних процесів в тканинах піднижньощелепних СЗ за умов сполученої токсичної дії нітрату та фториду натрію та додання до раціону щурів яблучного пектину та пектиновмісних продуктів (вівсяного борошна).

Матеріали та методи. Дослідження були проведені на 20 білих щурах лінії Вістар, з масою тіла 180-215 г, у таких серіях дослідів: у першій - необхідні показники вивчали у інтактних тварин (контрольна серія), у другій – після сукупного введення нітрату натрію (200 мг/кг маси тіла) та фториду натрію (10 мг/кг маси тіла) протягом 30 діб, у третій та четвертій – протягом останніх 14 діб 30-денної сполученої токсичної дії нітрату та фториду натрію раціон щурів доповнювався призначенням – відповідно

яблучного пектину виробництва "Herbstreith & Fox KG Pektin-Fabriken" (Німеччина) (80 г/кг корму) [14] та пектино-вмісного продукту (вівсяного борошна, 100 г/кг корму) [9]. Евтаназію тварин виконували методом дислокації шийних хребців під ефірним наркозом.

Активність NOS визначали за різницею концентрації NO_2^- до та після інкубації гомогенату тканин піднижньощелепних СЗ у середовищі, що містить L-аргінін (субстрат NO-синтаз, NOS) та нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений (НАДФН). Концентрацію NO_2^- визначали шляхом утворення діазосполук у реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з α -нафтилетилендіаміном, у результаті якої утворюються похідні червоного кольору (азобарвники) [10]. Активність у тканинах СЗ орнітиндекарбоксилази – ферменту, що відбиває стан аргіназного шляху метаболізму L-аргініну – визначали за зниженням вмісту орнітину в інкубаційному середовищі методом Chinard [7].

Утворення супероксидного аніон-радикала (O_2^-) у гомогенаті СЗ оцінювали при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм з індукторами у вигляді НАДН (для оцінки продукції O_2^- мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом, ЕТЛ) і НАДФН (для оцінки продукції O_2^- мікросомальним ЕТЛ) [8].

Рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканинах оцінювали по утворенню в реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметінового комплексу до і після 1,5-годинної інкубації [5]. Активність антиоксидантної (АО) системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час півторагодинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині, а також за активністю антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (СОД) та каталази [5]. Активність α -амілази визначали за методикою Каравея за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна, м. Дніпропетровськ) [3].

Отримані цифрові дані піддавали статистичній обробці. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Уїлка. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували t-критерій Ст'юдента для незалежних вибірок. У випадку, коли ряди даних не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Манна-Уїтні. Статистичні розрахунки проводили з використанням програм "Microsoft Excel 2007" та "StatisticSoft 6.0".

Результати дослідження та їх обговорення. У тканинах піднижньощелепних СЗ шурів, яким вводили яблучний пектин під час відтворення бінарної хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію, активність сумарних NOS на 12,4 % ($p < 0,05$) поступається, а активність орнітиндекарбоксилази на 11,0 % ($p < 0,05$) перевищує величини відповідних показників у другій серії дослідів (таблиця 1). Це, вочевидь, пов'язано зі зменшенням надходження токсикантів у організм через наявність у пектині сорбційних властивостей [12]. Зменшення концентрації фторидів і нітратів у організмі (у відношенні останніх важливе значення має обмеження їх ентеро-саліварного переносу [11]), очевидно, попереджує дизрегуляторні розлади циклу оксиду азоту (обмежується пригнічення фторид-іонами аргіназної активності, відновлюється функціонування NOS за принципом негативного зворотного зв'язку при утворенні додаткової кількості NO з екзогенних попередників). Збільшення активності орнітиндекарбоксилази є важливим механізмом оптимізації репаративних процесів у пошкоджених СЗ шляхом утворення поліамінів, які регулюють процеси реплікації та транскрипції, і, як наслідок, проліферацію клітин та біосинтез білків, відіграють істотну роль у регуляції апоптозу клітин, транспорту Ca^{2+} у мітохондріях [13].

Таблиця 1. Вплив пектину та пектиновмісних продуктів на зміни активності ферментів NOS та орнітиндекарбоксилази в СЗ за умов сполученого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію ($M \pm m$, $n=20$)

Назва ферменту	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Сполучене введення нітрату та фториду натрію		
		Контроль	+ яблучний пектин	+ вівсяне борошно
NOS, мкмоль $[NO_2^-]$ / г·хв	4,09 \pm 0,12	5,18 \pm 0,21*	4,54 \pm 0,18**	4,76 \pm 0,27
Орнітиндекарбоксилаза, нмоль/г·хв	267,11 \pm 7,21	236,32 \pm 7,13*	262,38 \pm 6,89**	258,02 \pm 7,02

Примітка. В табл. 1-2: * – $p < 0,05$ у порівнянні з даними інтактних щурів; ** – $p < 0,05$ у порівнянні з даними другої серії.

У той же час додавання до раціону борошна вівсяної крупи не призводить до достовірних змін активності NOS та орнітиндекарбоксилази. Додавання до раціону тваринам яблучного пектину та борошна вівсяної крупи за умов бінарної хронічної інтоксикації нітратом і фторидом

натрію достовірно не впливає на вироблення у тканинах СЗ O_2^- мікосомальним ЕТЛ та зменшує його продукцію мітохондріальним ЕТЛ – відповідно, на 7,9 % ($p < 0,02$) та 6,7 % ($p < 0,02$), у порівнянні з даними другої серії (таблиця 2).

Таблиця 2. Вплив пектину та пектиновмісних продуктів на зміни показників вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту у тканинах СЗ за умов сполученого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Сполучене введення нітрату та фториду натрію		
		Контроль	+ яблучний пектин	+ вівсяне борошно
Продукція O_2^- , нмоль/г·с:				
мікосомальним ЕТЛ	15,86 \pm 0,53	21,12 \pm 0,34*	20,69 \pm 0,32*	20,73 \pm 0,68*
мітохондріальним ЕТЛ	14,08 \pm 0,41	18,94 \pm 0,32*	17,45 \pm 0,37*/**	17,68 \pm 0,34 */**
Концентрація ТБК-реактивів, мкмоль/г				
до інкубації	22,7 \pm 0,4	35,8 \pm 1,2*	29,8 \pm 1,4*/**	30,9 \pm 1,3*/**
після інкубації	30,0 \pm 1,2	50,1 \pm 1,4*	42,6 \pm 1,32*/**	44,6 \pm 2,25*
приріст	7,3 \pm 0,3	14,3 \pm 0,4*	12,8 \pm 0,4*/**	13,7 \pm 0,7*
Активність СОД, од. акт.	0,22 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01*	0,21 \pm 0,02**	0,16 \pm 0,03
Активність каталази, мкат/г	2,89 \pm 0,10	2,34 \pm 0,07*	2,66 \pm 0,12**	2,43 \pm 0,15*
Активність α -амілази, мг/год×г	70,32 \pm 1,97	60,11 \pm 1,89*	66,81 \pm 1,94**	66,18 \pm 1,9**

Введення тваринам яблучного пектину за цих умов достовірно зменшує концентрацію ТБК-реактивів до інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині – на 16,8 % ($p < 0,01$) – та після інку-

бації – на 15,0 % ($p < 0,01$) – у порівнянні з даними другої серії. Це вказує на обмеження активності ПОЛ при введенні пектину. При цьому виявляється зниження величини приросту концентрації ТБК-

активних сполук за час півторогодинної інкубації у прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині (на 10,5 %, $p < 0,05$), у порівнянні з даними другої серії.

Введення щурам пектиновмісного борошна вівсяної крупи за умов бінарної 30-денної інтоксикації нітратом та фторидом натрію також достовірно зменшує концентрацію ТБК-реактивних до інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині (на 13,7 %, $p < 0,02$), у порівнянні з даними другої серії. Проте приріст концентрації ТБК-активних сполук, за час півторогодинної інкубації у прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині, достовірно не змінюється (у порівнянні з даними другої серії).

Здатність яблучного пектину обмежувати зниження антиоксидантного потенціалу в тканинах СЗ при дії токсичних агентів також підтверджується достовірним підвищенням у тканинах СЗ активності АО ферментів – СОД і каталази – відповідно, на 40,0 % ($p < 0,02$) та 13,7 % ($p < 0,05$), у порівнянні з даними другої серії.

Введення тваринам яблучного пектину та пектиновмісного борошна вівсяної крупи під час відтворення бінарної хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію достовірно підвищує актив-

ність α -амілази у тканинах СЗ – відповідно, на 11,1 % ($p < 0,05$) та 10,1 % ($p < 0,05$), у порівнянні з даними другої серії, що вказує на покращення білоксинтезуючої функції СЗ. Це, на нашу думку, також пов'язане зі зниженням всмоктування токсикантів у кров та надходження у СЗ.

Висновки: 1) Додавання до раціону щурам яблучного пектину під час відтворення бінарної хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію запобігає розвитку розладів ауторегуляції рівня NO в організмі (циклу оксиду азоту), що виявляється у попередженні надмірної активації у тканинах піднижньощелепних СЗ NOS та пригнічення ферментів аргіназного шляху метаболізму L-аргініну (орнітиндекарбоксилази); 2) Додавання до раціону щурам яблучного пектину та пектиновмісних продуктів (борошна вівсяної крупи) під час відтворення бінарної хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію знижує продукцію у тканинах піднижньощелепних СЗ супероксидного аніон-радикала мітохондріальним ЕТЛ, обмежує пероксидне окиснення ліпідів, покращує їх білоксинтезуючу функцію. Введення у корм тваринам яблучного пектину суттєво підвищує в цих тканинах антиоксидантний потенціал, активності супероксиддисмутази та каталази.

ЛІТЕРАТУРА:

1. **Белікова І.В.** Організаційні питання ранньої профілактики стоматологічних захворювань дитячого населення ендемічного регіону / **І.В. Белікова** // Пробл. екол. та мед. – 2009. – № 1-2. – С. 36-39.
2. **Гжегоцький М.Р.** Стан адаптаційних реакцій у процесі корекції негативного впливу стрес-факторів хімічної природи / **М.Р. Гжегоцький, Ю.В. Федоренко** // Фізіол. журн. – 2006. – Т. 52, № 5. – С. 47-54.
3. Лабораторные методы исследования в клинике / **В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотиницкая и др.**] – М. : Медицина, 1987. – 368 с.
4. **Мячина О.В.** Особенности секреции оксида азота в слюнных железах у человека в норме и при патологии / **О.В. Мячина, А.А. Зуйкова, А.Н. Пашков [и др.]** // Вестн. Воронежск. гос. ун-та. Сер. Химия, биология, фармация. – 2006. – № 1. – С. 137-140.
5. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / **Л.В. Беркало, О.В. Бобович, Н.О. Боброва та ін.** ; За ред. **І.П. Кайдашева.** – Полтава, 2003. – 320 с.
6. **Стасюк О.А.** Роль ізоформ NO-синтази у механізмах порушень вільнорадикальних процесів у слинних залозах щурів за умов спільного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію / **О.А. Стасюк, В.О. Костенко** // Світ мед. та біол. – 2012. – № 4. – С. 101-104.
7. **Храмов В.А.** Простой метод определения активности орнитиндекарбоксилазы в смешанной слюне человека / **В.А. Храмов** // Клин. лаборат. диагн. – 1997. – № 4. – С. 14-15.
8. **Цебржинский О.И.** Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом / **О.И. Цебржинский** // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2002. – Т. 2, № 1. – С. 96-97.

9. **Чоні І.В.** Профілактичний вплив біологічно активних компонентів соусів на емульсійній основі (пектину, борошна з пшеничної, перлової та вівсяної круп) при хронічній нітратній інтоксикації / **І.В. Чоні, В.П. Лисак, В.О. Костенко** // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2004. – Т. 4, № 2. – С. 28-30.
10. **Hevel J.M.** Purification of the inducible murene macrophage nitric oxide synthase / **J.M. Hevel** // J. Biol. Chem. - 1991. – V. 266, № 34. – P. 22.
11. **Lundberg J.O.** The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics / **J.O. Lundberg, E. Weitzberg, M.T. Gladwin** // Nature reviews. – 2008. – V. 7. – P. 156-167.
12. **Marounek M.** Effect of pectin and amidated pectin on cholesterol homeostasis and cecal metabolism in rats fed a high cholesterol diet / **M. Marounek, Z. Volek, A. Synytsya, J. Čopíková** // *Physiol. Res.* – 2007. – V. 56. – P. 433-442.
13. **Moinard C.** Polyamines: metabolism and implications in human diseases / **C. Moinard, L. Cynober, J.P. de Bandt** // *Clin. Nutr.* – 2005. – V. 24, № 2. – P. 184-197.
14. **Pirman T.** Effects of dietary pectin on protein digestion and metabolism in growing rats / **T. Pirman, P. Patureau-Mirand, A. Orešnik, J. Salobir** // *Acta agricult. Sloven.* – 2009. – V. 94, № 2. – P. 111-119.
15. **Tormanen C.D.** Substrate inhibition of rat liver and kidney arginase with fluoride / **C.D. Tormanen** // *J. Inorg. Biochem.* – 2003. – V. 93, № 3-4. – P. 243-246.

Стасюк А.А., Костенко В.А. Влияние пектина и пектиносодержащих продуктов на окислительные процессы в тканях слюнных желез белых крыс в условиях сочетанного избыточного поступления нитрата и фторида натрия // *Загальна патологія та патологічна фізіологія.* – 2012. – Т. 7, № 3. – С. 112 – 116.

В эксперименте на 20 белых крысах исследовано состояние NO-синтазного и аргиназного путей метаболизма L-аргинина и окислительных процессов в тканях поднижнечелюстных слюнных желез (СЖ) при сочетанном токсическом действии нитрата и фторида натрия и добавлении к рациону крыс яблочного пектина и пектиносодержащих продуктов (муки овсяной крупы). Выявлено, что применение яблочного пектина предупреждает чрезмерную активацию в тканях СЖ NO-синтазы и угнетение ферментов аргиназного пути метаболизма L-аргинина (орнитиндекарбоксилазы). Добавление в рацион крысам яблочного пектина и муки овсяной крупы снижает продукцию в тканях СЖ супероксидного анион-радикала митохондриальной электронно-транспортной цепью, ограничивает пероксидное окисление липидов, улучшает их белоксинтезирующую функцию. Кроме того, введение в корм яблочного пектина существенно повышает в СЖ антиоксидантный потенциал, активность супероксиддисмутазы и каталазы.

Ключевые слова: пектин, интоксикация нитратом натрия, интоксикация фторидом натрия, слюнные железы, оксид азота, свободнорадикальное окисление.

Stasiuk A.A. Kostenko V.A. Effect of pectin and pectin-containing products on the oxidative processes in the tissues of salivary glands in white rats under the combined excess nitrates and sodium fluoride // *Загальна патологія та патологічна фізіологія.* – 2012. – Т. 7, № 3. – С. 112 – 116.

The experiments on 20 white rats was aimed to study the state of NO-synthase and arginase ways for L-arginine metabolism and oxidation processes in the tissues of submandibular salivary gland (SG) exposed to the combined toxic effect of sodium nitrate and fluoride against the background of the diet including apple pectin and pectin-containing products (oatmeal). It has been revealed the apple pectin prevents excessive NO-synthase activation in the SG tissues as well as the inhibition of arginase pathway enzymes of L-arginine metabolism (ornithine decarboxylase). Supplementing of apple pectin and pectin-containing food (oatmeal) to the usual diet of the rats reduces the production of superoxide anion radical by mitochondrial electron transport chain in the SG tissue, limits lipid peroxidation, improves the protein synthesis function. In addition, the introduction of apple pectin into the diet significantly increases the antioxidant potential in SG, as well as the activity of superoxide dismutase and catalase.

Keywords: pectin, sodium nitrate intoxication, sodium fluoride intoxication, salivary gland, nitric oxide, free radical oxidation.