

## **ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НИТРАТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА АКТИВНОСТЬ $\alpha$ -АМИЛАЗЫ ТКАНЕЙ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ**

Бондаренко В.В., Аветиков Д.С., Рыбалов О.В., Гаврильев В.Н.,  
Иваницкая Е.С.

Высшее государственное учебное заведение Украины  
«Украинская медицинская стоматологическая академия» (г. Полтава)

Полость рта начальный отдел желудочно-кишечного тракта, здесь начинаются первые этапы пищеварительного процесса. Активное участие при этом принимает секрет слюнных желез, в составе которого одно из ведущих мест занимает слюнный тип  $\alpha$ -амилазы (S-тип). Она участвует в процессах гидролиза полисахаридной цепи крахмала и углеводов в полости рта. И вместе с тем с рядом продуктов питания (овощи, картофель, молоко и молокопродукты, лекарственные препараты) в организм попадает достаточно большое количество нитратов. Основа распада нитратов - оксид азота является важным биорегулятором [2], т.е. жизнь биологических объектов, в том числе и человека, невозможна без нитратов. Однако наличие в пище избыточного количества данного соединения может вызывать негативные изменения в организме, связанные со свободно радикальными свойствами его молекулы, которая имеет неспаренный спин электрона, что обуславливает его высокие реакционные свойства [3].

Оксид азота по своей химической природе относится к двухатомным нейтральным молекулам, малые размеры и отсутствие заряда дает этой молекуле возможность проникать через мембраны клеток и субклеточных структур. Коэффициент диффузии для молекулы оксида азота при  $t$  37°C примерно в 1,4 раза выше, чем у кислорода. Высокие реакционные свойства оксида азота проникновения через мембраны клеток и субклеточных структур приводят к нарушению окислительно-восстановительных реакций и образованию азотсодержащих соединений, что способствует нарушению

функций органов и их систем, регулирующих обменные процессы в организме [6].

Особенно токсично на клетки влияют метаболиты оксида азота: соли азотной и азотистой кислот, N-нитрозосоединения, органические нитраты. Влияние солей азотной кислоты на ткани слюнных желез в литературе освещены недостаточно, что и побудило авторов на проведение данного исследования.

**Целью исследования** было установление влияния хронической нитратной интоксикации на активность фермента  $\alpha$ -амилазы тканей слюнных желез.

**Объект и методы исследования.** Эксперимент проводился на 85 белых крысах линии Вистар весом 160-250 гр в 10 сериях опыта. Содержание животных и эксперименты проводились в соответствии с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1985), «Общих этических принципов экспериментов на животных», принятых Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

1 и 2 группы - интактные животные (контроль), 3 - 10 группы – исследуемые животные, у которых после отравления в течение 14-ти, 30-ти, 60-ти, 90-та суток и эвтаназии экстирпировались поднижнечелюстные и околоушные слюнные железы. Хроническую нитратную интоксикацию воспроизводили путем введения в желудок нитрата натрия специальным зондом. Тканевую навеску слюнных желез гомогенизировали с буфером 1:10, затем центрифугировали 10 мин. при 3000 об / мин. Готовили смесь на 10 проб: 5 ml крахмала + треть буфера. В исследовательские пробирки набирали 0,8 ml субстратной смеси и 0,1 ml центрифугата слюнных желез. После инкубирования в термостате при  $t$  37°C в течение 30 мин. добавляли 2,6 ml HCl. Затем из каждой пробирки брали по 0,7 ml гомогената, переносили в мерную колбу по 50 ml, добавляли 0,1 ml раствора йода, доводили водой до 50

ml. Фотометрировали в сравнении с водой при 690 нм. Расчеты проводили согласно рекомендаций В.К. Леонтьева [5].

**Результаты исследований и их обсуждение.** После 14-суточного введения животным нитрата натрия отмечалась неизменность активности  $\alpha$ -амилазы в сравнении с интактными животными. При более длительном поступлении нитрата натрия в организм животных отмечалось достоверное снижение активности  $\alpha$ -амилазы: после 60 и 90 суточного отравления на 14,5% и 17,7% соответственно. Все изменения в тканях слюнных желез отражены в таблице.

Показатели исследования	Статистические показатели	Интактные животные	Интоксикация нитратом натрия			
			14 суток	30 суток	60 суток	90 суток
Амилаза	$M \pm m$	$1,24 \pm 0,06$	$1,21 \pm 0,06$	$1,17 \pm 0,06$	$1,06 \pm 0,05$	$1,02 \pm 0,05$

Примечание: Р - возможна вероятность ошибки при сравнении полученных результатов с данными контрольной серии (интактными животными).

Можно предположить, что снижение функциональной активности  $\alpha$ -амилазы в тканях слюнных желез на фоне хронической нитратной интоксикации развивается вторично. Первоначально развивается гемическая гипоксия за счет накопления метгемоглобина в крови после 30-, 60-, 90-суточного отравления, на фоне которой вторично развивается тканевая гипоксия, которая влияет на нарушение синтеза АТФ и снижение энергетического потенциала, биоэнергетических процессов в тканях слюнных желез. После проведения исследования нами сделано предположение, что образование  $\alpha$ -амилазы в слюнных железах крыс – процесс энергозависимый, так как слюнные железы – это орган двойной функции: они являются не только экскреторным органом, но и эндокринным. В тканях нитраты биотрансформируются в конечный продукт – оксид азота, где они накапливаются в виде динитрозольных комплексов железа [3]. Такие накопления нарушают ферментативную активность системы цикла Кребса и

функцию железосодержащих макромолекул - носителей электронов в дыхательной цепи, нарушение функции которых снижает энергетические процессы в клетках [4]. На фоне этого происходит ингибирование глицериальдегид-3-фосфатдегидрогеназы, после чего происходит нитрозолирование тиоловых групп фермента, ограничивающего способность компенсировать биоэнергетическую недостаточность в тканях [6]. Кроме субстратной форм и диссимиляции гипоксигена, на фоне хронической нитратной интоксикации развивается и ферментативный его вариант. Особенно нарушается функция ферментов, содержащих в своих активных центрах ионы меди и железа (это ферменты дыхательной цепи цитохромы), и факторов антиоксидантной защиты [1]. Все эти нарушения приводят к развитию тканевой гипоксии, на фоне которой происходит снижение функции слюнных желез, об этом свидетельствует снижение образования  $\alpha$ -амилазы и ее активности в зависимости от сроков хронической нитратной интоксикации.

Преломляя полученные результаты к клинике заболеваний слюнных желез, можно говорить, что если количество фермента в ротовой жидкости уменьшается, следовательно имеет место вялая функция желез, выделяющих этот фермент. Подобное явление может наблюдаться после острой формы воспаления одной из желез, при некрозе тканей железы. Кроме того имеется вероятность развития дефицита  $\alpha$ -амилазы при хроническом паренхиматозном паротите – генетическом недуге, выражающемся изменением ацинарного аппарата желез, вырабатывающих амилазу [7].

**Перспективы дальнейших исследований.** На основе полученных результатов в дальнейшем планируется внедрить в практическую медицину методику лечения хронических заболеваний слюнных желез стимуляцией активности  $\alpha$ -амилазы их тканями.

## **Литература**

1. Беспалова Н. А. Влияние подслизистого введения перфторана на процессы перекисного окисления липидов и активность антиоксидантной

системы жидкости в полости рта у больных хроническим генерализованным пародонтитом / Н. А. Беспалова, К. Н. Конторщикова, А. В. Воробьева //Стоматология. - 2010. -Т. 89. - № 2. - С. 22-25.

2. Дзугкоев С. Т. Влияние эндогенных регуляторов эндотелиальной NO-синтазы на гомеостаз оксида азота и липопротеины сыворотки крови при экспериментальном сахарном диабете / С. Т. Дзугкоев, В. А. Метельская, Ф. С. Дзугкоева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2013 - Т. 156. - № 8. - С. 171 -174.

3. Костенко В. О. Роль слюнных желез в механизмах ауторегуляции уровня оксида азота в организме млекопитающих и их нарушения / В. О. Костенко [и др.] //Актуальные проблемы современной медицины. Вестник Украинской медицинской стоматологической академии. -2013.-Т. 13. - № 2.-С. 10-14.

4. Лазарева З. О. Механизмы нарушения митохондриального дыхания и окислительного фосфорилирования в головном мозгу белых крыс в раннем и восстановительном периодах острой интоксикации нитратом натрия /З.О. Лазарева // Актуальные вопросы морфогенеза. – 1996. - № 3. -С. 166 -167.

5. Леонтьев В. К. Биохимические методы исследования в клинической и экспериментальной стоматологии / В. К. Леонтьев, Ю. А. Петрович. -Омск, 1976. -94с.

6. Титов В. Ю. Может ли суммарное содержание нитрита и нитрата служить показателем интенсивности синтеза оксида азота (NO) в тканях организма. / В. Ю. Титов [и др.] //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2012 — Т.153. - №6.- С.816-819

Электронный ресурс: <http://www.tiensmed.ru/news/amilaza-wkti>.