

УДК [616.33:615.916,172.6]-0.92.9:613.86

РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В ЗНИЖЕННІ ЗАХИСНОЇ ФУНКЦІЇ
СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЗА УМОВ ГОСТРОГО
СТРЕСУ У ЩУРІВ З РІЗНИМ ТИПОМ РЕАГУВАННЯ

О.Є. ОМЕЛЬЧЕНКО

ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ
“УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ”

Кафедра медичної, біологічної та біоорганічної хімії

На щурах-самцях Вістар доведено, що ульцерогенний ефект гострого стресу залежить від типу реагування тварин. Ступінь виразкових ушкоджень слизової оболонки шлунка, зниження бар'єрної функції слизового гелю корелюють зі стресостійкістю тварин та зменшенням продукції NO в слизовій оболонці при гострому стресі.

Ключові слова: гострий стрес, виразки шлунка, слизовий бар'єр шлунка, оксид азоту, тип реагування.

ВСТУП. Генез виразок шлунка слід розглядати з позицій взаємодії факторів агресії і захисту слизової оболонки шлунка (СОШ) [2]. Серед останніх найважливішими є продукція слизового гелю, активна секреція гідрокарбонатів, регенерація епітеліальних клітин та адекватна гемоциркуляція слизової оболонки та підслизового шару шлунка [5]. До складу шлункового слизу входять глікопротеїни (ГП) та протеоглікани, що забезпечують бар'єрну функцію.

Оксид азоту (NO) вважають одним із найважливіших медіаторів системи травлення, який впливає на стан слизового гелю, кровообіг та активність ферментів гастродуоденальної зони. NO є потужним вазодилататором, що здатний обмежувати розлади гемоциркуляції при стресі. Але такі важливі питання як вплив NO на молекулярні механізми стресорного ушкодження та захисну функцію слизового бар'єра шлунка в залежності від типу реагування тварин недостатньо розкриті.

Мета даної роботи – з'ясувати роль NO-регулюючої системи в ульцерогенезі, захисній функції СОШ у щурів з різними типами реагування та стресостійкості організму.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконані на 66 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 160-220 г з дотриманням правил біоетики щодо медико-біологічних досліджень. Модель гострого емоційного стресу відтворювали за

методом Г. Сельє [9]. Типологічні особливості тварин визначали у нейроетологічному тесті „відкрите поле” з використанням факторно-аналітичного методу [4], розподіливши їх на дві групи: стресостійкі та стресонестійкі. Контролем слугували інтактні тварини з відповідним типом реагування.

Евтаназію тварин здійснювали через 2 години після завершення стресорного впливу під гексеналовим наркозом (50 мг/кг) шляхом кровопускання. Ульцерогенний вплив оцінювали на підставі визначення частоти, множинності та площі виразкових ушкоджень СОШ [8]. Для оцінки продукції NO в слизовому гелі шлунка досліджували рівень стабільних метаболітів – нітритів з використанням реактиву Гриссу [1]. Стан слизового гелю оцінювали за вмістом в гомогенаті СОШ мономерів ГП – N-ацетилнейрамінової кислоти (NANA) та фукози не зв'язаної з білками [3, 6]. Отримані результати піддавали статистичному аналізу з використанням критерію t Ст'юдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нами встановлено, що емоційний стрес викликає розвиток виразок шлунка у 100% тварин стресонестійкого типу, при цьому множинність виразок (кількість виразок на 1 тварину) дорівнювала $3,66 \pm 0,4$, а площа виразок – $9,33 \pm 1,72$ мм². За цих умов показники ушкодження СОШ в групі стресостійких щурів були достовірно менш виражені (78%, $1,77 \pm 0,32$ та $2,66 \pm 0,58$ мм² відповідно; $p < 0,05$). В контрольних групах тварин патологічних змін СОШ не спостерігали.

Таблиця – Вміст мономерів глікопротеїнів та нітритів у гомогенаті СОШ щурів залежно від типу реагування за умов гострого стресу, (M±m)

Характер дослідів	Контроль		Стрес	
	Тип реагування		Тип реагування	
	стресонестійкі (n=8)	стресостійкі (n=8)	стресонестійкі (n=8)	стресостійкі (n=8)
Показник				
N- ацетилнейрамінова кислота, мкмоль/г	$51,75 \pm 2,38$	$43,81 \pm 2,05$	$73,75 \pm 4,55^*$	$59,12 \pm 3,20^*$
Фукоза не зв'язана з білком, мкмоль/г	$1,98 \pm 0,30$	$1,77 \pm 0,36$	$3,74 \pm 0,49^*$	$2,85 \pm 0,27^*$
Нітрити, мкмоль/г	$0,89 \pm 0,06$	$1,05 \pm 0,07$	$0,56 \pm 0,06^*$	$0,54 \pm 0,08^*$

-*достовірна різниця ($p < 0,05$) між контрольною і дослідною групами;

За умов гострого стресу вміст NANA в слизовому гелі шлунка перевищує у 1,4 рази відповідний показник у інтактних щурів; вміст не зв'язаної з білком фукози – у 1,7 разів, що відображає підвищену деградацію сіало- та фукозоглікопротеїнів СОШ (табл.). Найбільшим ступенем деградації компонентів шлункового слизу – мономерів ГП, відзначається група тварин стресонестійкого типу (табл.). Отже, ступінь деполімеризації шлункового слизу залежить від типу реагування тварин на стресорні впливи.

Вміст нітритів у слизовому гелі шлунка у тварин обох типів за умов гострого стресу достовірно знизився в 1,6-1,9 разів порівняно з контролем відповідного типу реагування (табл.), що може свідчити про гальмування синтезу NO клітинами СОШ. При цьому вихідний рівень метаболітів NO у стресостійких тварин достовірно вищий порівняно із групою стресонестійких щурів, що, можливо, відіграє певну роль у неоднаковому ступені стресорного ушкодження СОШ. Зниження локальної продукції NO призводить до зменшення об'єму шлункового кровотоку і створює передумови для ушкодження СОШ [7].

Ряд авторів відмінності генетично детермінованої стійкості до стресорних ушкоджень пов'язують з неоднаковою продукцією оксиду азоту, який є фактором адаптаційного захисту організму [7]. Відомо, що патогенний вплив стресорних факторів реалізується за участю системи гіпоталамус-гіпофіз-кора наднирників та симпатoadреналової системи. Глюкокортикоїди не тільки знижують внутрішньоклітинний вміст мРНК трьох ізоформ NO-синтаз: NOS-1 [12], NOS-2 та NOS-3 [11] але й активують протеоліз синтезованих молекул NOS [13]. Можливо, цим і пояснюється зниження продукції NO в стінці шлунка, що сприяє порушенню гемоциркуляції з наступною ішемією СОШ та виразкоутворенням у групі стресованих щурів. Є відомості про те, що активація eNOS у СОШ призводить до покращення мікроциркуляції та попереджає ішемію слизової оболонки [10]. Отже, є підстави пов'язувати виразки шлунка з ішемією СОШ внаслідок дефіциту NO.

ВИСНОВКИ. 1. Ульцерогенний ефект стресу залежить від стресостійкості організму; у щурів стресонестійкого типу він більш виражений порівняно зі стресостійким типом.

2. Гострий емоційний стрес зменшує вміст нітритів у СОШ, який корелює з тяжкістю стресорних виразок, що підтверджує їх ішемічну природу.

3. Ступінь виразкових ушкоджень СОШ, зниження бар'єрної функції слизового гелю та зменшення вазодилататорного впливу NO при гострому стресі залежать від стресостійкості тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Метод определения нитрита/нитрата (NOx) в сыворотке крови // *Вопр. биомед. химии* – 2004. - №1. – С. 79-85.
2. Дегтярева И.И., Харченко Н.В. Язвенная болезнь (современные аспекты диагностики и лечения). – К.: Здоров'я, 1995. – 336 с.
3. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1976. – 313 с.
4. Майоров О.Ю. Прогнозування індивідуальної стійкості білих шурів до експериментальних емоціональних стресів за даними нейроетологічних показників в тесті „відкритого поля” // XII з'їзд Укр. фізіол. т-ва ім. І.П. Павлова: Тез. доповід. – Львів, 1986. – С. 250.
5. Малов Ю.С., Дударенко С.В., Оникиенко С.Б. Язвенная болезнь. – М.: Медицина, 1994. – 206 с.
6. Метод определения фукозы, не связанной с белками / Шараев П.Н., Стрелков Н.С., Кильдиярова Р.Р. и др. // *Клин. лаб. диагностика*. – 1997. - №4. – С. 17-18.
7. Пшенникова М.Г., Бондаренко Н.А., Шимкович М.В. Оксид азота как фактор генетически детерминированной устойчивости к стрессорным повреждениям и адаптационной защиты // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* – 2001. – Т. 132, №11. – С. 510-513.
8. Пшенникова М.Г., Попкова Е.В., Шимкович М.В. Адаптация к стрессорным воздействиям повышает устойчивость к повреждениям желудка при остром стрессе у крыс популяции Вистар и снижает устойчивость у крыс линии Август: роль серотонина // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* – 2002. – №10. – С. 383-386.
9. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. - М.: Медицина, 1960. - 254 с.
10. Kawanaka H., Jones M.K., Szabo I.L. et al. Activation of eNOS in rat portal hypertensive gastric mucosa is mediated by TNF-alpha via the PI3-kinase-Akt signaling pathway // *Hepatology* – 2002. – Vol. 35. – P. 393-402.
11. Lou Y.K., Wen C., Li M. et al. Decreased renal expression of nitric oxide synthase isoforms in adrenocorticotropin-induced and corticosterone-induced hypertension // *Hypertension* – 2001. – Vol. 37. – P. 1164-1170.

12. Nadaud S., Mao C., Luvara G. et al. Isoform-specific regulation of nitric oxide synthase mRNA in the kidney by sodium and blood pressure // J. Hypertens. – 1998. – Vol. 16. – P. 1315-1323.
13. Walker G., Pfeilschifter J., Otten U., Kunz U. Proteolytic cleavage of inducible nitric oxide synthase (iNOS) by calpain // I. Biochim. Biophys. Acta – 2001. – 1568. – P. 216-224.

Резюме

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В СНИЖЕНИИ ЗАЩИТНОЙ ФУНКЦИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО СТРЕССА У КРЫС С РАЗНЫМ ТИПОМ РЕАГИРОВАНИЯ

А.Е. ОМЕЛЬЧЕНКО

ВЫСШЕЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧЕБНОЕ ЗАВЕДЕНИЕ
УКРАИНЫ «УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ
СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ» (ПОЛТАВА)

На крысах-самцах Вистар обосновано, что ульцерогенный эффект острого стресса зависит от типа реагирования животных. Степень язвенных повреждений слизистой оболочки желудка, снижение барьерной функции слизистого геля коррелирует со стрессоустойчивостью животных и уменьшением продукции NO в слизистой оболочке при остром стрессе.

Ключевые слова: острый стресс, язвы желудка, слизистый барьер желудка, оксид азота, тип реагирования.

Summary

THE ROLE OF THE NITRIC OXIDE IN DECREASING OF THE PROTECTIVE FUNCTION OF GASTRIC MUCOSA DURING ACUTE STRESS RATS WITH DIFFERENT REACTING TYPE.

OMELCHENKO O.

HIGHER STATE EDUCATIONAL ESTABLISHMENT OF UKRAINE
“UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY” (c.
POLTAVA).

It was proved on male Vistar rats, that ulcerogenic action of the acute stress depends on the reacting type of animals. The level of ulcer damages of the gastric mucosa, decreasing of barrier function of the mucous gel is correlated with the stress resistance of animals and decreasing of production of NO in gastric mucosa during acute stress.

Key words: acute stress, gastric ulcers, gastric mucous barrier, reacting type, nitric oxide.