

УДК 577.115.617

Л. Гайда, асп., О. Карпюк, студ.,
М. Тимошенко, студ., Л. Остапченко, д-р біол. наук

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗИ В ЦИТОЗОЛІ ПАРІЄТАЛЬНИХ КЛІТИН ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТРОФІЧНОГО ГАСТРИТУ

Досліджено активність глутатіон-S-трансферази в парієтальних клітинах щурів в динаміці розвитку атрофічного гастриту. На четвертому тижні розвитку атрофічного гастриту виявлено статистично достовірне збільшення активності ферменту на 69,6%. У віддалені терміни розвитку експериментальної моделі активність вказаного ферменту знижувалась і на кінцевому етапі становила на 37,6% менше від контрольного значення.

Activity of glutathione-S-transferase in rat parietal cells during development of chronic atrophic gastritis was investigated. On the fourth week of disease development we observed statistically significant increasing of fermental activity on 69,6%. During later period of disease glutathione-S-transferase activity decreased and on final stages it was lower on 37,6% comparing with control level.

Вступ. На сьогодні атрофічний гастрит розглядають переважно як "хронічний запально-дистрофічний процес у слизовій оболонці шлунка, який характеризується порушенням її фізіологічної регенерації, зменшенням кількості залозистих клітин, а у разі прогресування – атрофією залозистого епітелію, розладом секреторної, моторної та інкреторної функцій шлунка" [1]. Одним із механізмів розвитку атрофії слизової оболонки шлунка є порушення процесів проліферації та апоптозу, які можуть бути індуковані різноманітними чинниками (ірадіацією, $H.pylori$, дією етанолу, саліцилату та ін.). Ці процеси призводять до міграції поліморфноядерних лейкоцитів і макрофагів до поверхневого шару слизової шлунка і супроводжуються "оксидативним вибухом": вивільненням і утворенням цілого спектру вільнорадикальних сполук [2]. Накопичення токсичних продуктів призводить до пошкодження мембран, інактивації ферментів, порушення проліферації клітин [3].

Глутатіонова антипероксидна система ферментів, яка включає глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу, перешкоджає перекисному окисленню ліпідів і захищає клітинні мембрани від пошкоджень продуктами перекислення. Крім того, ця система відіграє важливу роль в детоксикації, деградації та виведенні із організму чужерідних органічних сполук. Ця функція реалізовується через роботу глутатіон-S-трансферази (ГТ). На сьогодні, експериментальними та клінічними дослідженнями встановлено, що система глутатіону бере також участь в процесах регуляції проліферації [6], які залучені в патогенез хронічного атрофічного гастриту.

Метою нашої роботи було дослідження активності глутатіон-S-трансферази парієтальних клітин щурів в динаміці розвитку експериментального атрофічного гастриту.

Об'єкт і матеріали досліджень. У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій про проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин згідно Європейської конвенції. В досліді використовували білих лабораторних нелінійних щурів-самців з початковою масою 180-220 г. Групи тварин, протягом 6 тижнів вводили 2% саліцилат натрію (2 мл інтрагастрально), а питну воду заміняли на 20 мМ деоксихолат натрію. Піддослідні тварини були розділені на 7 груп: 1 – контрольна, яка утримувалась на стандартному раціоні віварію; 2–7 – тварини з відповідними термінами розвитку атрофічного гастриту. Щурів, яких відсаджували на голод протягом 18 год, брали на 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й і 6-й тиждень проведення експерименту [9].

Розвиток атрофічного гастриту підтверджували гістологічними дослідженнями. Відбирали зразки кардіальної, фундальної та пілоричної частин шлунку, які об-

робляли за стандартними методами. Зразки забарвлювали гематоксиліном та еозином. Парієтальні клітини виділяли за описаною методикою (ферментативне відщеплення клітин слизової з наступним ультрацентрифугуванням на сахарозо-фікольному градієнті) [7].

Визначення активності глутатіон-S-трансферази (ГТ) проводили в супернатанті і оцінювали за швидкістю утворення кон'югату з 1-хлор-2,4-динітробензолом (ХДНБ), який характеризується максимумом поглинання при 340 нм [8]. Активність ферменту перераховували на мг білка, вміст якого в дослідних зразках визначали за методом Бредфорд. Результати статистично обробляли за t-критерієм Стюдента.

Результати та їх обговорення. При введенні саліцилату натрію (інгібітора простогландинциклогенази) у щурів спостерігалось ураження слизової шлунку, яке посилювалось деоксихолатом натрію. Останній, розчиняючи захисний поверхневий шар слизу, стимулював рефлекс жовчі із дванадцятипалої кишки [9].

В результаті гістологічних досліджень на початкових етапах розвитку ХАГ (2-3 тижні) спостерігалось потовщення слизової оболонки на 10–15%, що можна пояснити гіперпроліферацією стовбурових клітин у відповідь на дію пошкоджуючих агентів [1]. На 5-6 тиждень експериментальної моделі товщина слизової зменшувалась в порівнянні з контролем. На кінцевих етапах ХАГ спостерігалось часткове розкладання макроскопічних складок шлунку. Залози розташовувались невпорядковано, їхня кількість зменшилась в порівнянні з контролем ($P > 0,05$). Починаючи з 4-го тижня спостерігалось проростання сполучної тканини в основу залоз, а також лімфатична інфільтрація, що є стійкою ознакою хронічного атрофічного гастриту [1, 3].

Досліди показали, що за умови розвитку експериментального атрофічного гастриту активність глутатіон-S-трансферази змінювалась різнонаправлено, в залежності від етапу експериментальної моделі. Згідно з даними, представленими на рис. 1, спостерігалось зниження активності глутатіон-S-трансферази на 24,8% після першого тижня експериментального атрофічного гастриту в порівнянні з контролем. На 2-й та 3-й тиждень відмічено підвищення активності глутатіон-S-трансферази порівняно з першим тижнем, але значення не перевищували контрольного рівня. На четвертому тижні розвитку атрофічного гастриту спостерігається статистично достовірне збільшення активності глутатіон-S-трансферази на 69,6%. У віддалені терміни розвитку експериментальної моделі активність вказаного ферменту знижувалась і на кінцевому етапі становила на 37,6% менше від контрольного значення.

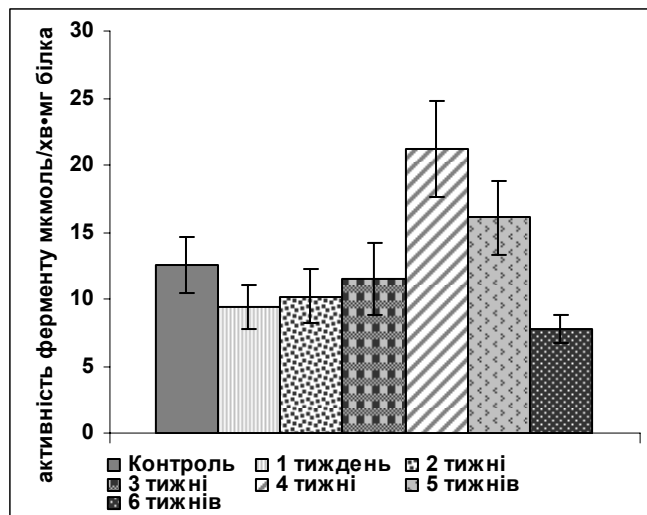


Рис 1. Активність глутатіон-S-трансферази в цитозолі парієтальних клітин слизової оболонки шлунку в динаміці розвитку експериментального атрофічного гастриту

Глутатіон-S-трансферази каталізують необоротний процес кон'югації відновленого глутатіону з електрофільними чужерідними сполуками. Цей процес являється початковою стадією біосинтезу меркаптурових кислот – продуктів деградації глутатіонового кон'югату [4]. Глутатіонові кон'югати – це сильні алкілятори, які пошкоджують ДНК, а також порушують гомеостаз Ca^{2+} у клітині. Глутатіонтрансферази захищають життєво важливі центри клітини від пошкодження і в результаті вагомо збільшують стійкість клітин і всього організму [5].

Зниження активності ферменту на ранніх стадіях може свідчити про участь у цитопротекції інших ферментативних систем, які забезпечують антиоксидантний захист. В такому випадку подальшу активацію глутатіон-S-трансферази можна розглядати як компенсаторну реакцію в умовах пригнічення активності ферментів вищезазначених систем – глутатіонпероксидази та каталази, так як глутатіонтрансфераза здатна також використовувати в якості акцептора органічні пероксиди. Ріст активності глутатіонтрансферази може бути викликаний підвищеною концентрацією продуктів перекисного окислення ліпідів, накопиченням великої кількості ендогенних та екзогенних токсичних речовин, які є наслідком запального процесу. Причиною зниження активності глутатіон-S-трансферази на пізніх етапах може бути наслідком виснаження антиоксидантної системи, спричинене хронізацією патологічного процесу.

Висновки. Таким чином, аналіз представленого матеріалу дозволив виявити особливості змін активності глутатіон-S-трансферази, які направлені на підтримання компенсаторно-адаптивних реакцій в організмі в умовах розвитку експериментального атрофічного гастриту. На підставі отриманих даних актуальним стає всебічне дослідження стану глутатіонової антиоксидантної системи та систем, які з нею пов'язані.

1. Аруин А.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Е.П. Хронический гастрит. – Амстердам, 1993.
2. Бабак О.Я., Протас Ю.В. Хронический атрофический гастрит – точка отсчета начала канцерогенеза // Суч. гастроентерол. – 2005. – № 5(25). – С. 9–14.
3. Букин Ю.В., Драудин-Криленко В.А. Молекулярно-биологические механизмы гастроканцерогенеза и подходы к профилактике рака желудка // Успехи биол. химии. – 2000. – т. 40. – С. 329–356.
4. Кахнов Н.Б., Хмелевский Ю.В. Глутатіон-S-трансферазы, ферменты детоксикации. – Укр. Биохим. Журнал, 1983. – т. 55. – № 1.
5. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. Глутатіон-S-трансферазы. – Успехи современной биологии. – 1989. – т. 107. – № 2. – С. 179–194.
6. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатіона // Успехи современной биологии. – 1990. – т. 110. – № 1. – С. 20–26.
7. Таиров М.М., Берсумбаев Р.И., Ареутинская С.В., Салгани Р.И. Клеточная локализация аденилатциклаза, стимулируемых гистамином и простагландином E_2 , в слизистой оболочке желудка крыс и их роль в регуляции желудочной секреции // Биохимия. – 1983. – т. 48. – № 6. – С. 1035–1041.
8. Habig W.H., Parst M.J., Jakoby W.B. Glutathione-S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. – 1974. – Vol. 249. – № 22. – P. 7130–7139.
9. Wang Liang-jing, Chen Shu-jie, Chen Zhe, Cai Jian-ting, Si Jian-min. Morphological and pathologic changes of experimental chronic atrophic gastritis (CAG) and the regulating mechanism of protein expression in rats // J Zhejiang Univ SCIENCE B. – 2006. – № 7(8). – P. 634–640.

Надійшла до редколегії 10.11.06

УДК 577.125.6

Я. Максимович, асп., О. Дробінська, канд. біол. наук,
Ю. Гавриленко, студ.

ОКСИД АЗОТУ В ПАТОГЕНЕЗІ ВИРАЗКИ ШЛУНКУ

Розглянуто і проаналізовано дані літератури про участь оксиду азоту в процесах патогенезу виразки шлунку.
The literature data about the role of nitric oxide in processes of gastric ulcer pathogenesis were considered and analyzed.

Одним із найбільш яскравих відкриттів останнього десятиліття, що мають фундаментальне значення і дозволили по-новому підійти до розуміння молекулярних механізмів ряду фізіологічних процесів у клітині, є відкриття оксиду азоту (NO) як поліфункціонального фізіологічного регулятора [1, 6]. На сьогодні NO розглядається як перший представник нового класу сигнальних молекул, що здійснює міжклітинну комунікацію і регуляцію багатьох біохімічних процесів у різних тканинах і системах організму [4], зокрема відіграє винятково важ-

ливу роль у підтриманні нормального функціонування травної системи. Показано, що оксид азоту впливає на секрецію слизу [7], соляної кислоти та бікарбонатів [4] клітинами слизової оболонки шлунку, інсуліну – підшлунковою залозою [12], приймає участь у регуляції моторики стравоходу, шлунку та кишечника, а також забезпечує належне кровопостачання цих органів [4, 20].

Оксид азоту в організмі головним чином синтезується за участю ферменту синтази оксиду азоту (NOS) за наявності NADPH, FAD, FMN, тетрагідробіоптерину, каль-

© Максимович Я., Дробінська О., Гавриленко Ю., 2007