

УДК 616.33-002-092

В. Прокопов, студ., Л. Кузьменко, асп.,
О. Богданова, канд. біол. наук, К. Прокопова, канд. біол. наук,

2',5'-ОЛІГОАДЕНІЛАТСИНТЕАЗНА АКТИВНІСТЬ В ЛІМФОЇДНИХ КЛІТИНАХ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ВИРАЗЦІ ШЛУНКА

Встановлено збільшення активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоцитах щурів при стресовій моделі виразки шлунка та її зменшення при етаноловій моделі, тоді як в процесі загоєння виразки активність ферменту перевищувала контрольні значення в обох випадках. Введення тваринам препарату фенугрека призвело до нормалізації досліджуваного показника

It was shown that 2',5'-oligoadenylate-synthetase activity increased in rat lymphocytes under stress stomach ulcer and decreased under alcohol ulcer model. The enzyme activity increased under ulcer cicatrization in both models. The fenugreek administration to rats caused the normalisation of investigated index.

Вступ. Однією з найбільш поширених патологій органів травлення на сьогодні залишається виразкова хвороба шлунка [1]. Останнім часом особливий інтерес викликає вивчення процесів сигнальної трансдукції за умов дії різних стресорних чинників, результатом чого є розвиток патологічних станів. В цьому аспекті привертає увагу система 2',5'-олігоаденілату, що є ключовим компонентом інтерферон-індукованого сигнального каскаду [10, 11]. На сьогодні показано, що рівень 2',5'-олігоаденілатів, які є внутрішньоклітинними медіаторами дії інтерферону, суттєво зростає за умов розвитку різних патологічних процесів [11]. Відомо, що рівень інтерферону суттєво підвищується в тканинах шлунка у хворих на виразку, порівняно із здоровими особинами [12]. В той же час залишається нез'ясованою роль інтерферон-індукованої системи 2',5'-олігоаденілату в механізмах розвитку виразкової хвороби шлунка. У зв'язку з цим цікавим є вивчення активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази (ключового ферменту 2',5'-олігоаденілатного каскаду) за умов експериментальної виразки шлунка. Оскільки на виникнення і розвиток патологічного стану в першу чергу реагує імунна система, інтерес представляє дослідження внутрішньоклітинних молекулярних перетворень в лімфоїдних клітинах.

Метою роботи було дослідження змін активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоїдних клітинах щурів у контролі та за умов розвитку патологічних станів, що виникали в результаті створення експериментальної моделі алкогольної та стресової виразки шлунка. Також було вивчено вплив на досліджуваний показник препарату фенугрека.

Об'єкт та методи дослідження. Експерименти проводилися на нелінійних білих щурах масою 150–200 г. Експериментальну етанолову модель виразки шлунка створювали шляхом перорального введення 80%-го етанолу (разово) [6]. Стресову виразку шлунка викликали згідно моделі іммобілізаційного "соціального стресу" [2]. Частина тварин отримувала перорально фенугрек (препарат порошку з насіння пажитника *Trigonella foenum graecum*, наданий відділом медичних та ароматичних рослин Інституту рослинництва Західно-Угорського університету) в дозі 1 г/кг ваги в 1 мл фізіологічного розчину двічі на добу протягом 7 днів після виникнення виразки. Лімфоїдні клітини виділяли з селезінки і тимусу щурів [3, 5]. Активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази визначали спектрофотометричним методом за рівнем НАДФ-Н, який відновлюється в результаті каскадних ферментативних реакцій, що ініціюються пірофосфатом – одним з продуктів синтезу олігоаденілатів [8]. Вміст білка в пробі визначали по методу Лоурі [9].

Результати досліджень та їх обговорення. Було показано, що при експериментальній стресовій виразці шлунка активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази зростає в лімфоцитах тимуса і селезінки щурів порівняно з контролем приблизно в 1,2 раза в обох імунних органах. На

7 добу після виникнення виразки шлунка в процесі її загоєння активність досліджуваного ферменту ще більше перевищувала контрольний рівень: у 2,5 раза в клітинах тимусу та майже у 2 рази в спленоцитах (табл.). Напевне, стимуляція 2',5'-олігоаденілат-синтетази у лімфоцитах щурів за умов виникнення стресової виразки шлунка та в процесі її загоєння є результатом активації інтерферон-залежного сигнального каскаду 2',5'-олігоаденілату у відповідь на дію стресових чинників.

За етанолової моделі виразки шлунка активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоїдних клітинах тварин, на відміну від попередньо охарактеризованого стану, була значно нижчою за контрольні значення (табл.). Отримані дані можна пояснити тим, що алкоголь негативно впливає на імунітет [4], а зниження активності досліджуваного ферменту у лімфоцитах щурів може розглядатися як послаблення імунної відповіді організму за умов спиртової моделі виразки шлунка. У той же час, у процесі загоєння виразки – на 7 добу досліджень – активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази перевищує контроль у 5 та 1,5 раза в тимocyтах і спленоцитах відповідно. Дане спостереження може свідчити про відновлення функціональної активності імунокомпетентних клітин після припинення інгібуючої дії алкоголю.

Таким чином, у відповідь на виразкоутворення (за умов стресової моделі) та в процесі загоєння виразки шлунка (як при стресовій, так і етаноловій моделі) в імунокомпетентних клітинах дослідних тварин збільшується активність ключового ферменту інтерферон-залежного месенджерного каскаду, а саме 2',5'-олігоаденілат-синтетази, що свідчить про інтенсифікацію захисних механізмів і може вважатись показником відповіді імунної системи на розвиток в організмі патологічного процесу – виразкової хвороби шлунка. Водночас той факт, що активність ферменту значно перевищує контрольні значення на пізніх термінах (7 доба після виникнення виразки шлунка), коли, як показано раніше, відбувається загоєння виразки, може свідчити про порушення молекулярних процесів у лімфоїдних клітинах, що можуть призводити до виснаження захисних систем з одного боку чи розвитку неадекватно вираженої імунної відповіді – з іншого. Актуальним питанням є можливість корекції досліджуваного показника, тому цікавим є вивчення впливу на активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази біологічно активних препаратів, що володіють імуномодулюючими властивостями.

Нами було досліджено вплив біологічно-активної речовини фенугрека на активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоцитах селезінки і тимусу щурів при стресовій та етаноловій моделях виразки шлунка. Фенугрек характеризується рядом біологічно цінних властивостей (жарознижувальна, протисклеротична, протидіабетична, загальнозміцнювальна дія та ін.), містить діосгенін (сапонін), завдяки якому володіє протизапальною та знеболюючою активністю [7, 13]. Тому цікавим

було дослідити ефекти фенугрека в умовах розвитку виразкової хвороби шлунка.

У ході досліджень було встановлено, що у щурів, які отримували фенугрек протягом 7 діб після виникнення виразки (тобто в процесі її загоєння), активність

2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоїдних клітинах зменшувалась, порівняно з контрольними тваринами (див. табл.). Фенугрек призводить до нормалізації рівня олїгоаденілатсинтетази в лімфоцитах щурів з експериментальною виразкою шлунка.

Таблиця. Активність 2',5' – олїгоаденілат-синтетази (нмоль ФФн·хв⁻¹·мг⁻¹ білка) в лімфоїдних клітинах селезінки і тимуса щурів за умов стресової та етанолової моделі виразки шлунка при застосуванні біологічно активної речовини фенугрека, (M±m, n=10)

Група дослідю	Лімфоїдні клітини	
	тимусу	селезінка
Контроль	0,611± 0,030	3,115± 0,155
Стрессова виразка шлунка	0,726± 0,035*	3,585± 0,175*
стрес – загоєння	1,478± 0,073*	5,973± 0,295*
стрес+фенугрек	1,516± 0,075*	2,204± 0,110**
Етанолова виразка шлунка	0,183± 0,008*	0,631± 0,030*
етанол – загоєння	3,209± 0,158*	4,935± 0,245*
етанол +фенугрек	2,086± 0,102**	1,752± 0,085**

* – p < 0,05 по відношенню до контрольної групи

** – p < 0,05 по відношенню до групи без препарату

Висновки. Отримані дані свідчать про те, що за умов експериментальної стресової виразки шлунка та в процесі її загоєння в лімфоїдних клітинах щурів збільшується активність 2',5'-олїгоаденілат-синтетази, тоді як при етаноловій моделі показано зменшення даного показника після виникнення виразки та його зростання в ході загоєння. Введення біологічно активної речовини фенугрека мало нормалізуючий вплив на активність 2',5'-олїгоаденілат-синтетази в лімфоцитах щурів з виразкою шлунка. Подальші дослідження системи 2',5'-олїгоаденілату при розвитку виразкової хвороби є необхідним для з'ясування молекулярних механізмів функціонування клітинних месенджерних систем патологічного процесу ульцерогенезу та визначення їх ролі у формуванні захисних реакцій організму.

1. *Ивашкин В.Т., Шептулин А.А.* Избранные лекции по гастроэнтерологии. – М., 2001. 2. *Гройсман С.Д., Кареева Т.Г.* О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс // Библ. указ. ВИНТИ. Деп. рукописи – 1979. – № 12. 3. *Морозов В.Г.,*

Хавинсон В.Х. Иммунологическая функция тимуса // Успехи совр. биол. – 1985. – Т. 97, № 1. 4. *Циммерман Я.С.* Хронический гастрит и язвенная болезнь // Пермь: ПГМА. – 2000. 5. *Boyum A.* Separation of leucocytes from blood and bone marrow // Scand. J.Clin. Lab. Invest. – 1968. – Vol. 21. 6. *Cao H., Wang M., Jia J., et al.* Comparison of the effects of pantoprazol enantiomers on gastric mucosal lesion and gastric epithelial cells in rats. // J. of health science. – 2004. – Vol. 50, N 1. 7. *Dixit P., Ghaskadbi S., Mohan H., et al.* Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds // Phytother Res. – 2005. – Vol. 19, N 11. 8. *Justensen J., Kjeldgaard N.O.* Spectrophotometric pyrophosphate assay of 2',5'-oligoadenylate synthetase // Anal. Biochem. – 1992. – Vol. 207, N 1. 9. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., et al.* Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, N 1. 10. *Player M.R., Torrence P.F.* The 2-5A system: modulation of viral and cellular processes through acceleration of RNA degradation // Pharmacol. Ther. – 1998. – Vol. 78, N 2. 11. *Stark G.R., Kerr I.M., Williams B.R.G., et al.* How cells respond to interferons // Ann. Rev. Biochem. – 1998. – Vol. 67. 12. *Yamamoto N., Sakagami T., Fukuda Y., et al.* Influence of Helicobacter pylori infection on development of stress-induced gastric mucosal injury // J. Gastroenterol. – 2000. – Vol. 35, N 5. 13. *Yang W.X., Huang H.Y., Wang Y.J.* Study on chemical constituents in total saponin from Trigonella foenum-graecum // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. – 2005. – Vol. 30, N 18.

Надійшла до редколегії 15.12.06

УДК 576:616.3

О. Вороніна, канд. біол. наук, В. Гришук, студ.,
М. Дзержинський, д-р біол. наук.

УЛЬТРАСТРУКТУРНИЙ АНАЛІЗ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ФУНДАЛЬНОГО ВІДДІЛУ ШЛУНКА ЩУРІВ ПРИ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ

Досліджено ультраструктурні зміни в слизовій оболонці дна шлунка щурів при гіпергастринемії, яка була викликана 28-ми денним введенням омепразолу. Показано, що при тривалій гіпергастринемії, викликаній омепразолом, в усіх шарах слизової оболонки відбуваються зміни, які свідчать про розвиток передпухлинних процесів.

Ultrastructural changes in rat oxyntic mucosa during hypergastrinaemia induced by long-term (28 days) omeprazole administration were studied. In all mucosal layers, ultrastructural features indicating metaplastic development of epithelium were found.

Вступ. Серед усіх захворювань на рак смертність від раку органів травної системи займає перше місце. За офіційними статистичними даними, Україна знаходиться на 3-му місці в Європі по поширеності раку шлунка, уступаючи сумну пальму першості лише Росії і Білорусії. Всього в Україні щорічно реєструється біля 15–16 тис. нових випадків раку шлунка, біля 95% всіх випадків діагностується на III і IV стадіях, внаслідок чого помирає біля 14 тис. хворих в рік [1]. Тому, по-перше, пошук змін, які передують виникненню пухлин, як і раніше, залишається актуальним та далеким від завершення. По-друге, розробка засобів профілактики розвитку раку є не менш важливою проблемою, ніж проблема створення ефективних антиракових препаратів.

Серед факторів, які обумовлюють морфологічні зміни, що ведуть до малігнізації, важлива роль належить гастрину, про що свідчить значна кількість літератури, згідно якої гастрин стимулює ріст нормальної та злоякісної тканин шлунково-кишкового тракту [2]. Ряд досліджень наводять на думку про вагому роль гастрину у патогенезі шлункової аденокарциноми завдяки не тільки підвищеному рівню циркулюючого гастрину, але також і гастрину пухлинного походження, який може бути стимулом для росту пухлини в епітелії шлунку.

У природних умовах гіпергастринемія є наслідком ваготомії, гіпоацидності та ахлоргідрії [3]. В експериментальних умовах гіпергастринемію викликають тривалим введенням інгібіторів протонної помпи, H⁺/K⁺-АТФази [4], ключового ферменту апікальної мембрани парієталь-

© Вороніна О., Гришук В., Дзержинський М., 2007