

© Т.Д. Хілько, І.В. Якубцова, Т.Д. Преображенська, Л.І. Остапченко

УДК 577.175.73:616.33:616.34

Т.Д. Хілько, І.В. Якубцова, Т.Д. Преображенська, Л.І. Остапченко

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ГЛІКОПРОТЕЇНІВ ШЛУНКОВОГО І ДУОДЕНАЛЬНОГО СЛИЗУ ПРИ УЛЬЦЕРОГЕНЕЗІ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка (м. Київ)

Робота виконується в рамках НДР «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій», № держреєстрації 0111U004648.

Вступ. При розвитку патологічних процесів все більше значення приділяється порушенню адаптації організму до змінених умов життєдіяльності. Одна з концепцій патогенезу виразкової хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки (ДПК) розглядається з точки зору теорії адаптації [6, 4]. Під впливом етіологічних чинників виникає порушення механізмів, що забезпечують відтворення функцій та координацію системи саморегуляції. Виразка, що утворилась, надає сигнал у певні відділи центральної нервової системи в результаті мобілізуються механізми адаптації. При вивченні патогенезу виразкової хвороби велике значення надається стійкості слизової оболонки гастродуоденальної системи до пошкоджуючих факторів. Основну роль у захисті слизової оболонки виконує пристінковий шар слизу, що захищає шлунок та ДПК від ушкодження патогенними чинниками різного походження. До цього часу залишається відкритим питання про взаємодію ураженого виразкою органу із сусідніми відділами шлунково-кишкового тракту, зокрема впливу виразкової хвороби шлунка на дванадцятипалу кишку, і навпаки, впливу виразкової хвороби дванадцятипалої кишки на шлунок.

Використання синтетичних або напівсинтетичних препаратів призводить до побічних ускладнень, що виснажують захисні сили організму. На тепершній час перевага віддається комплексам біологічно активних речовин природного походження. Прикладом такого засобу є екстракт насіння фенугрека (ЕФ) *Trigonella foenum graecum*. Широкий спектр фармакологічної дії фенугрека пояснюється тим, що він містить різноманітні цінні біологічно активні сполуки (полісахариди, флавоноїди, стероїди, амінокислоти, вітаміни, макро- та мікроелементи).

Метою роботи було порівняльне дослідження моносахаридного складу глікопротеїнів шлункового і дуоденального захисного пристінкового шару слизу в нормі, за умов моделювання гострої виразки шлунку, гострої виразки дванадцятипалої кишки у щурів та на фоні введення екстракту фенугрека.

Об'єкт і методи дослідження. В досліді використовували нелінійних самців щурів масою 220-240г. За добу до проведення дослідів щури мали доступ лише до води. Для виразкоутворення у шлунку застосовано модель іммобілізаційного стресу згідно [1]. Виразки дванадцятипалої викликали пероральним введенням цистеаміну у дозі 30 мг/100 г двічі на день з інтервалом в 4 год. [11]. Екстракт фенугрека

піддослідним тваринам вводили інтрагастрально у концентрації 50 мг на кг маси тварин двічі на добу протягом 7 діб за умов обох моделей виразкоутворення. Тварин розподіляли на п'ять груп: 1- контрольна, 2- група тварин, у яких моделювали стресову виразку, 3- тварини, яким для корекції стресової виразкової хвороби (ВХ) вводили ЕФ тварини, у яких моделювали цистеамінову виразку, 5- тварини, яким для корекції цистеамінової виразки вводили ЕФ. Визначення кількості фукози, галактози, гексозамінів, N-ацетилнейрамінової кислоти проводили за методами описаними [3] (мг/л). Визначення концентрації білка проводили згідно з методом [9]. Статистичну обробку результатів досліджень проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики на основі 10-12 повторів ($M \pm m$, $n=10-12$). Достовірність різниці показників оцінювали за допомогою t-критерію Ст'юдента. Постановка експериментів відповідала міжнародним біоетичним принципам експериментів на тваринах, міжнародним угодам та національному законодавству у цій галузі.

Результати досліджень та їх обговорення. Проведено дослідження складу структурних глікопротеїнів слизу шлунка і дванадцятипалої кишки (ДПК) за умов гострої стресової та цистеамінової виразки. Порівняння складу глікопротеїнів слизу у нормі показало, що загальний рівень глікозилювання глікопротеїнів (показник насичення моносахаридами глікопротеїнів) слизу шлунка у 1,7 раза більше ніж у дванадцятипалій кишці.

При моделюванні як стресового, так і цистеамінового виразкоутворення загальний рівень глікозилювання глікопротеїнів слизу шлунка не змінювався. У дванадцятипалій кишці загальний рівень глікозилювання глікопротеїнів (ГП) слизу зростає в порівнянні з контрольними тваринами у 1,7 раза за умов дії стресу та в 1,9 раза за дії цистеаміну.

За умов стресової виразки відбувались зміни у співвідношенні окремих ГП шлункового слизу щурів за рахунок зміни вмісту залишків моносахаридів: зменшення кількості гексозамінів – у 1,4 рази, галактози – у 2,2, фукози – у 1,3 раза та зростання кількості N-ацетилнейрамінової кислоти (NANA) – у 3,6 раза (**рис. 1**) відносно контролю.

За дії стресу у пристінковому слизу ДПК спостерігали достовірне підвищення вмісту моносахаридів ГП слизу: NANA – у 1,8 раза, фукози в 1,5 раза галактози в 1,9 рази та гексозамінів – у 1,7 раза (**рис. 2**).

Після введення цистеаміну практично не відбувалось змін відносної кількості окремих моносахаридів ГП шлункового слизу.

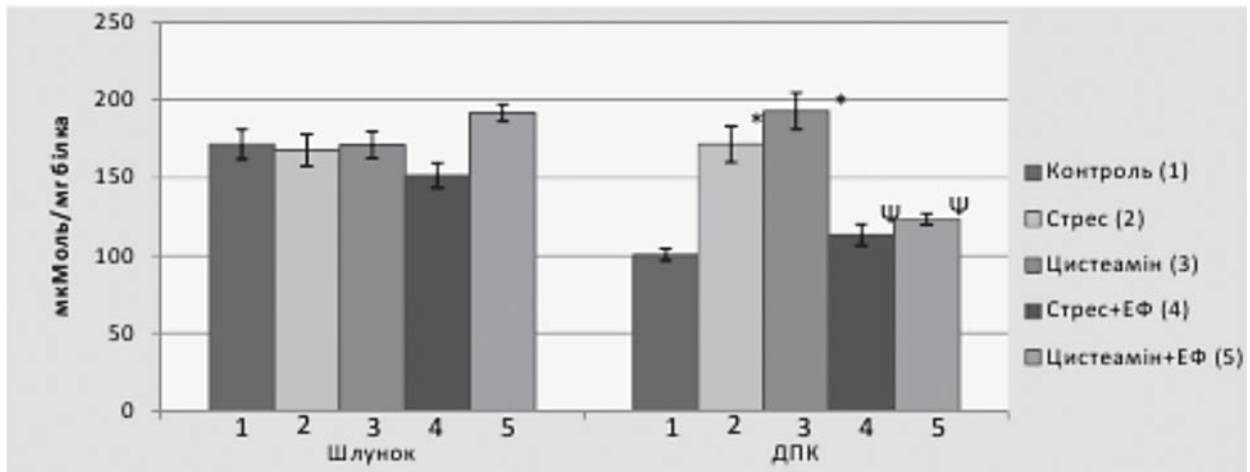


Рис. 1. Загальний вміст моносахаридів глікопротеїнів шлункового та дуоденального слизу за умов стресової та цистеамінової виразки у щурів та введення ЕФ ($M \pm m$; $n=12$). * – $p \leq 0,05$ – достовірно у відношенні до контролю. Ψ – $p \leq 0,05$ – достовірно у відношенні до відповідної моделі уражень.

За цих же умов у ГП ДПК слизу щурів відбувалось збільшення вмісту галактози в 2,7, фукози в 1,8 раза, NANA - в 2,4 раза, при цьому спостерігалось суттєве зниження кількості гексозамінів – у 3 рази (рис. 2) порівняно з контролем.

Найбільш виражене зростання вмісту NANA порівняно з контролем очевидно, зумовлено її термінальним положенням в молекулах глікопротеїнів, що при зниженні рівня інших компонентів ГП може свідчити про синтез укорочених незрілих структур ГП шлункового слизу, а також, можливо про синтез більш розгалужених молекул ГП. Встановлений факт можна розглядати як компенсаторну реакцію на вимушену секрецію незрілих ГП. Оскільки найчастіше фукоза займає кінцеве положення на бічних ланцюгах макромолекул ГП, то зміни вмісту цього моносахариду створюють умови до більш активної дії пептидгідролаз на білкову частину ГП шлунка.

Аналізуючи біохімічні компенсаторні характеристики ГП слизу шлунка та ДПК за умов виразкоутворення, можна помітити ряд спільних та специфічних рис, основою існування яких можуть бути особливості, що пов'язані із структурно-функціональними відмінностями цих двох органів. В основі реакції шлунка та ДПК на патологічні процеси виразкоутворення в цих органах можна чітко виділити два механізми, які частково відрізняються між собою: перший – зміни моносахаридного складу ГП, що є характерним як для шлунка так і ДПК, другий – нарощування загальної кількості моносахаридів ГП слизу, що притаманно тільки для ДПК. Здатність ДПК значно посилювати нарощування бічних моносахаридних ланцюжків на відміну від шлунка, де загальний рівень глікозилювання ГП практично не змінювався, перш за все може бути пов'язаними з різними шляхами слизоутворення. Відомо, що у шлунку слиз продукується в основному спеціалізованими клітинами – мукоцитами, а також деякими іншими, які при виділенні слизу зберігають свою цілісність, а у ДПК залозисті клітини злищуються у просвіт кишки і розпадаються [7, 8, 12].

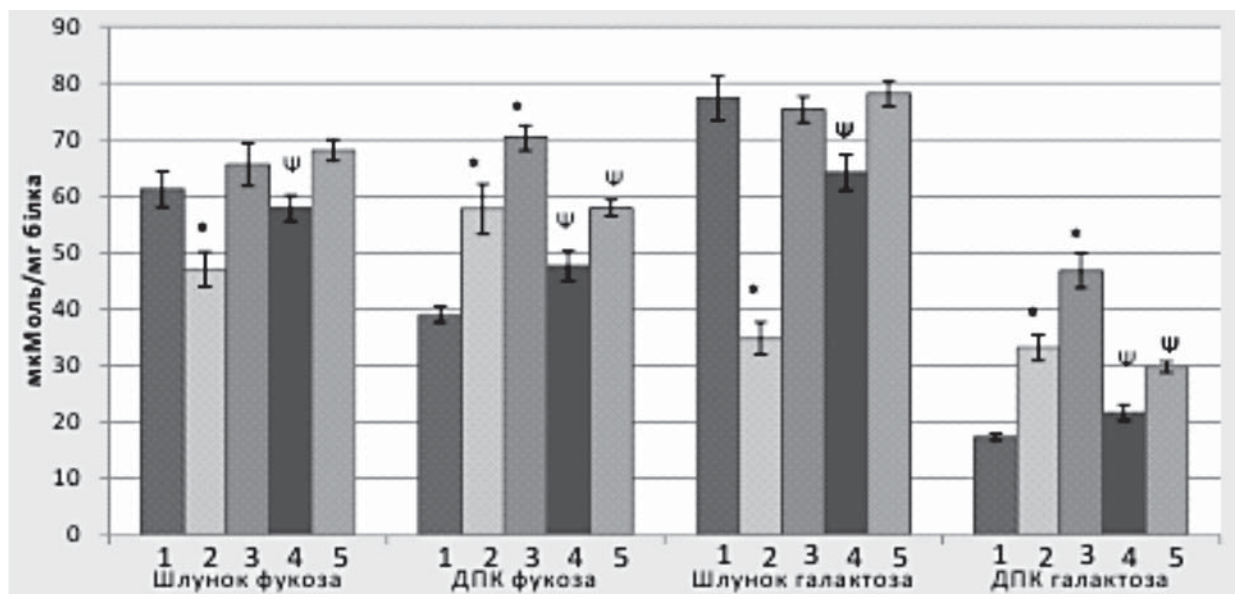
Таким чином, можна передбачати, що за умов ульцерогенезу у шлунку та ДПК відбуваються адаптивні процеси, які забезпечують підвищення резистентності їх СО шляхом зростання рівня глікозилювання ГП. Зміни кількісного складу моносахаридів ГП слизу ДПК за умов стресової виразки шлунка можливо є сукупним проявом як патологічного процесу, так і адаптивної реакції клітин ДПК на цей процес.

В результаті введення ЕФ щурам з експериментальною виразкою різного походження відбувається нормалізація складу ГП пристінкового шару слизу шлунка та ДПК (рис. 1, 2), відбувається відновлення загального рівня його глікозилювання, вмісту окремих моносахаридів, що може приводити до відновлення його протекторних та бар'єрних властивостей. Встановлений ефект можна пояснити тим, що до складу ЕФ входять полісахариди, які покращують стабільність функціонування клітинних мембран, посилюючи резистентність полісахаридного шару клітин досліджуваних слизових та забезпечуючи противиразковий ефект при будь-якому генезі виразкового ушкодження [10]. Крім того продукти розпаду полісахаридного комплексу (олігосахариди) підвищують секрецію власних полісахаридів (гастроукополісахаридів). ЕФ також може проявляти протизапальний ефект, пов'язаний з наявністю ефірних олій, які крім протимікробної та антивірусної дії мають гальмівний вплив на вільнорадикальні реакції [2, 5]. Комплекс різних за структурою та активністю сполук, які присутні у ЕФ, завдяки наявності слизистих, студенистих і інших субстанцій всмоктуються повільно і діють поступово, тривало.

Висновки.

1. Показано кількісні відмінності у біохімічному складі моносахаридів глікопротеїнів слизу у дванадцятипалій кишці і шлунку у нормі, як за умов гострої стресової, так і цистеамінової моделі. За умов стресової моделі у слизу шлунка спостерігається зменшення вмісту гексозамінів, галактози, фукози і зростання сіалових кислот, а у слизу дванадцятипалої

А



Б

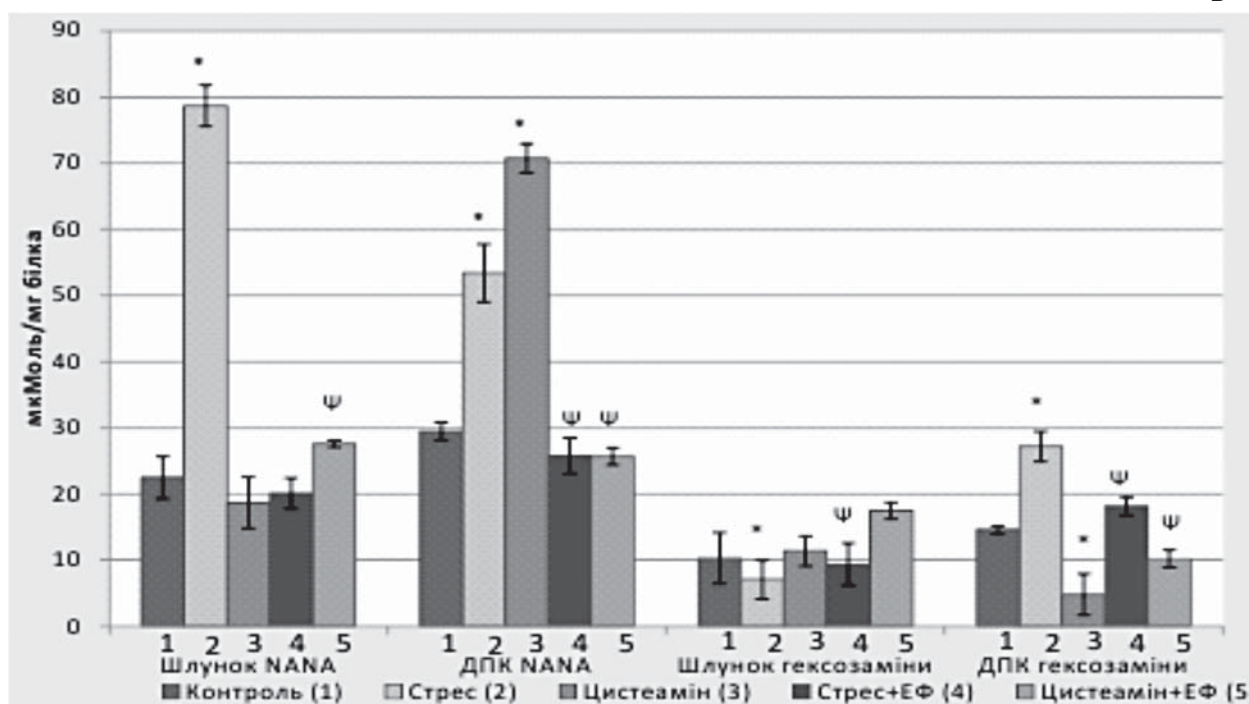


Рис. 2. (А, Б) Вміст моносахаридів глікопротеїнів (мкМоль/мг білка) шлункового та дуоденального слизу в нормі та за умов моделювання стресової і цистеамінової виразки у щурів та введення ЕФ ($M \pm m$; $n=12$). * – $p \leq 0,05$ – достовірно у відношенні до контролю. Ψ – $p \leq 0,05$ – достовірно у відношенні до відповідної моделі уражень.

кишки за цих умов – достовірне підвищення вмісту всіх груп моносахаридів. При цистеаміновій моделі у слизу дванадцятипалої кишки відбувалось зростання вмісту галактози, сіалових кислот, фукози, але суттєве зниження кількості гексозамінів.

2. Доведено захисний вплив екстракту фенугрека на склад глікопротеїнів пристінкового шару слизу, що приводило до нормалізації досліджуваних біохімічних характеристик структурно-функціонального стану клітин слизової оболонки шлунку

та дванадцятипалої кишки за умов моделювання гострого виразкоутворення у щурів.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення складу моносахаридів глікопротеїнів пристінкового слизу є доцільним для прогнозування розвитку виразкової хвороби, дозволить більш повно зрозуміти процеси, що відбуваються при комбінованих виразках шлунка і ДПК. Перспективним також є дослідження екстракту фенугрека як потенційного засобу для корекції виразкових ушкоджень слизових.

Список літератури

1. Гройсман С.Д. О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс / Гройсман С. Д., Каревина Т. Г. // Деп. в ВИНТИ. – 1979. – №3. – С. 19–24.
2. Belguith–Hadrache O. Lipid–lowering and antioxidant effects of an ethyl acetate extract of fenugreek seeds in high–cholesterol–fed rats / O. Belguith–Hadrache, M. Bouaziz, K. Jamoussi, A. El Feki, S. Sayadi, F. Makni–Ayedi // J Agric Food Chem. – 2010. – Vol.58, № 4. – P. 2116–2122.
3. Clamp J. R. Analysis of glycoproteins // Biochemical Society Symposia. – 1974. – Vol. 40. – P. 3–16.
4. Drozdowski L. Intestinal mucosal adaptation / L. Drozdowski, A. B. Thomson // World J Gastroenterol. – 2006. – Vol. 12, № 29. – P. 4614–4627.
5. Hamden K. Immunomodulatory, beta–cell, and neuroprotective actions of fenugreek oil from alloxan–induced diabetes / K. Hamden, H. Masmoudi, S. Carreau, A. Elfeki // Immunopharmacol Immunotoxicol. – 2010. – № 9 – P. 26–27.
6. Konturek P. C. Physiological, immunohistochemical and molecular aspects of gastric adaptation to stress, aspirin and to H. pylori–derived gastrotaxins / P. C. Konturek // J Physiol Pharmacol. – 1997. – Vol.48, № 1. – P. 3–42.
7. Konturek S. J. Duodenal mucosal protection by bicarbonate secretion and its mechanisms / S. J. Konturek, P. C. Konturek, T. Pawlik, Z. Sliwowski, W. Ochmanski, E. G. Hahn // J Physiol Pharmacol. – 2004. – Vol.55 Suppl 2. – P. 5–17.
8. Naye–Hashemi H. Gastrointestinal mucosal defense / H. Naye–Hashemi, J. D. Kaunitz // Curr Opin Gastroenterol. – 2009. – Vol.25, № 6. – P. 537–543.
9. Noble J. E., Bailey M. J. Quantitation of protein // Methods Enzymol. – 2009. – Vol.463. – P. 73–95.
10. Rayyan S. Flavone C–glycosides from seeds of fenugreek, Trigonella foenum–graecum L / S. Rayyan, T. Fossen, O. M. Andersen // J Agric Food Chem. – 2010. – Vol.58, № 12. – P. 7211–7217.
11. Robert A., Nezamis J. E., Lancaster C., Badalamenti J. N. Cysteamine–induced duodenal ulcers: a new model to test antiulcer agents // Digestion. – 1974. – Vol.11, № 3–4. – P. 199–214.
12. Smits H. L. Glycoprotein synthesis in the mucous cells of the vascularly perfused rat stomach. III. Mucous cells of the antrum and the duodenal glands / H. L. Smits, M. F. Kramer // Am J Anat. – 1981. – Vol.161, № 4. – P. 365–374.

УДК 577.175.73:616.33:616.34

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ГЛІКОПРОТЕЇНІВ ШЛУНКОВОГО І ДУОДЕНАЛЬНОГО СЛИЗУ ПРИ УЛЬЦЕРОГЕНЕЗІ

Хилько Т.Д., Якубцова І.В., Преображенська Т.Д., Остапченко Л.І.

Резюме. Проведено порівняльну оцінку якісного і кількісного складу глікопротеїнів шлункового та дуоденального захисного пристінкового шару слизу в нормі, за умов моделювання виразок у щурів та на фоні введення екстракту фенугрека. Показано кількісні відмінності у біохімічному складі моносахаридів глікопротеїнів у слизі дванадцятипалої кишки і шлунка як у нормі, так і за умов виразки шлунка, а також за умов виразки дванадцятипалої кишки. Доведено захисний вплив екстракту фенугрека на склад глікопротеїнів пристінкового слизу слизових оболонок шлунка та дванадцятипалої кишки за умов моделювання виразкоутворення у щурів.

Ключові слова: гостра стресова виразка, цистеамінова виразка дванадцятипалої кишки, моносахариди глікопротеїнів, екстракт фенугрека.

УДК 577.175.73:616.33:616.34

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЛИКОПРОТЕИНОВ ЖЕЛУДОЧНОЙ И ДУОДЕНАЛЬНОЙ СЛИЗИ ПРИ УЛЬЦЕРОГЕНЕЗЕ

Хилько Т.Д., Якубцова И.В., Преображенская Т.Д., Остапченко Л.И.

Резюме. Проведено сравнительную оценку качественного и количественного состава гликопротеинов желудочной и дуоденальной защитной пристеночной слизи в норме, в условиях моделирования язв у крыс и на фоне введения экстракта фенугрека. Показано количественные различия в биохимическом составе моносахаридов гликопротеинов в слизи двенадцатиперстной кишки и желудка как в норме, так и при язве желудка, а также при язве двенадцатиперстной кишки. Доказано защитное влияние экстракта фенугрека на состав гликопротеинов пристеночного слоя слизи слизистых оболочек желудка и двенадцатиперстной кишки в условиях моделирования язвообразования у крыс.

Ключевые слова: острая стрессовая язва, цистеаминовая язва двенадцатиперстной кишки, моносахариды гликопротеинов, экстракт фенугрека.

UDC 577.175.73:616.33:616.34

The Comparative Analysis Of Glycoproteins Of Gastric And Duodenal Slime At Ulcerogenesis

Khilko T.D., Jakubtsova I.V., Preobrazhenskaya T.D., Ostapchenko L.I.

Summary. The comparative evaluation of qualitative and quantitative composition of glycoproteins of gastric and duodenal wall surface layer of protective mucus in the normal, at the modeling of ulcers in rats and at the introduction of fenugreek extract carried out. It was shown quantitative differences in the biochemical composition of monosaccharides of glycoproteins in the mucus of duodenum and stomach in normal, under acute stress model, under cysteamine model. It was proved the protective effect of fenugreek extract to the wall surface mucus of the stomach and duodenum mucosa under conditions modeling ulceration in rats.

Key words: acute model stress of gastric ulcer, cysteamine model of duodenal ulcer, glycoproteins' monosaccharides, fenugreek extract.

Стаття надійшла 27.09.2011 р.