

УДК 616.311.2+616.329)-002-092616.014.6/.015.113

І.О. Пшик-Тітко

ОСОБЛИВОСТІ ПРОЗАПАЛЬНИХ РЕАКЦІЙ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ АКТИВНОСТІ ЕНТЕРОСАЛІВАТОРНОЇ РЕЦИРКУЛЯЦІЇ НІТРИТІВ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
м. Львів, Україна

e-mail: pshychka@yahoo.com

Резюме: У роботі встановлена роль ентеросалівавторної рециркуляції нітритів, компоненту цитопротекції та формоутворювача бар'єрної функції травної системи, у розвитку прозапальних реакцій за цитокиновою секрецією IL-18 і GRO/CINC-1 в умовах застосування інгібіторів шлункової секреції та доведена ефективність використання рослинного вітчизняного лікарського засобу Кавбузол при описаних пошкодженнях.

Ключові слова: ентеросалівавторна рециркуляція нітритів, IL-18, GRO/CINC-1, запалення, гіпоацидна шлункова секреція, цитопротекція, рослинний засіб протизапальної дії.

Вступ. У наш час актуальною проблемою є збільшення кислотоасоційованих захворювань. При цьому поширеність субклінічних форм вагомо переважає маніфестні форми, що обумовлює пошук ефективної цитопротекції проксимального відділів органів травлення. Ентеросалівавторна рециркуляція нітритів (ЕСРН) є важливим компонентом природної цитопротекції, що забезпечує функціонування NO/NOS сигналювання, реституцію та захисні реакції, формуючи бар'єрну функцію травної системи¹⁴.

Нітриту оксид (NO), речовина, утворена в результаті метаболізму L-аргініну. Як ендогенний газотрансмітер, він задіяний у багатьох фізіологічних процесах, в т.ч. нейромедіаторних функціях, запаленні, вазодилатації, міжклітинному сигналюванні, зсіданні крові, а також, як паракринний агент у багатьох патофізіологічних процесах¹⁰.

В організмі людини і тварин NO синтезується внутрішньоклітинно з L-аргініну завдяки каталітичній дії ферментів, об'єднаних під назвою NO-синтаз (NOS), і метаболізує до стабільних неактивних іонів: нітритів (NO₂⁻) та нітратів (NO₃⁻). У шлунку NO опосередковує рецептивну релаксацію, відіграє важливу роль у захисті слизової шлунка від уражень і бере участь у регуляції мікроциркуляції, запальних реакціях та зміні проникливості судин^{8,13}.

Згідно даних наукової літератури, ентеросалівавторна рециркуляція нітритів – важли-

вий чинник як цитопротекції, так і цитоагресії, в т.ч індукції неопластичних процесів. На сьогоднішній день харчові продукти містять велику кількість нітратів, що найчастіше потрапляють у них із мінеральними добривами. Найбільше їх виявляють у зелених овочах, полуниці, винограді тощо. Нітрати у вигляді нітрату натрію використовується для консервування м'яса, риби, сирів. Інколи нітрати потрапляють у питну воду. Абсорбція нітратів в організмі людини відбувається в тонкому кишківнику. До циркулюючих нітратів приєднується дещо менша кількість ендогенно утворених сполук – кінцевих продуктів каталітичної активності NOS, нітрит оксиду (NO)^{5,10}. Приблизно 25% усіх нітратів екскретуються слинними залозами у шлунково-кишковий тракт (ШКТ), формуючи ентеросалівавторну рециркуляцію (ЕСРН)^{7,11}. Відповідно, функціонування ЕСРН залежить від локального ендоекологічного стану проксимального відділу ШКТ, а саме фізико-хімічних параметрів, що в першу чергу визначаються станом шлункової кислотної секреції, моторно-евакуаторної функції, захисних властивостей мікробіоценозу. Незважаючи на значні досягнення у лікуванні кислотно-асоційованих захворювань, потужне і довготривале гальмування шлункової секреції викликає не лише зміни моторики та мікробіологічного балансу у проксимальному відділі ШКТ, а й порушення нейроендокринного регулювання, процесів травлення та клітин-

ного гомеостазу слизової оболонки, центральної регуляції та нейроповедінкових реакцій¹².

Дані літератури свідчать про те, що основним небезпечним ефектом гіпоацидних станів унаслідок тривалого гальмування шлункової секреції є гіпергастринемія. Проте немає достовірних даних стосовно того, чи впливають вони на функціональну активність ЕСРН. Оскільки, NO, як газотрансмітер, швидко проявляє свої біологічні ефекти важливим є дослідження стану цитокінового балансу для оцінки значення ЕСРН в умовах неінвазивного моделювання її функціональної активності. Тому, зважаючи на вагому роль холінотропного, гістамінотропного та NO-тропного компоненту у регулюванні шлункової секреції, доцільним, на нашу думку, є застосування їх антагоністів та оцінка стану прозапальної цитокінової секреції, високочутливих маркерів захисних реакцій та збереження бар'єрної функції ШКТ^{2,9}.

На сьогоднішній день вадливою проблемою клінічної фармакології та гастроентерології є пошук нових безпечних цитопротекторів. Як свідчать дані літератури та результати наших попередніх досліджень, виразною противиразковою дією володіють лікарські засоби рослинного походження, основною діючою речовиною яких є екстракт насіння кавбуза (*Cucurbita maxim sweet*). Це одна з нових культур, одержана методом гібридної селекції проф. А.І. Потопальським (лабораторія модифікації структури біологічно активних речовин ІМБіГ НАН України)^{1,3,4,6}. Основними діючими речовинами цієї рослини є комплекс нуклеїнових кислот кавуна і гарбуза, що потенційно можуть впливати на секрецію цитокінів за умов модифікації активності ЕСРН.

Мета дослідження – встановити роль ентросалівавторної рециркуляції нітритів у розвитку прозапальних реакцій за цитокіновою секрецією в умовах застосування інгібіторів шлункової секреції.

Матеріали та методи дослідження. Модельні дослідження проводили на нелінійних щурах (самцях) масою 180–220 г із дотриманням нормативів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей та дозволу університетського Комітету з біоетики (протокол №5 від 17.05.2010 р.). Дослідження проводилось у 3-и етапи. На 1-ому етапі тваринам вводили М-холіноблокатор атропін (А) у концентрації 3 мг/кг/добу внутрішньошлунково (в/ш) протягом 3-ох днів (лікарський засіб (ЛЗ) «Атропін-Дарниця», Україна); на 2-ому – А у поєднанні з блокатором H₂-рецепторів ранітидином (Р) в/ш у концентрації 100 мг/кг/добу протягом 3-ох днів (ЛЗ «Ранітидин», Україна); на 3-ому – комбінацію А, Р та L-NAME (інгібітор NO-синтази L-arginine methylester) у концентрації 10 мг/кг/добу, в/ш (*Sigma Chemical Co., St.Louis MO*) впродовж 3-ох днів. З метою корекції стану шлункової секреції використовували рослинний ЛЗ «Кавбузол» (0,5 мл на 200 г/добу), запропонований Інститутом молекулярної біології і генетики НАН України. Методологія досліджень передбачала розділення щурів на наступні групи (n=6–7): 1-а група – контролю, що включала інтактних тварин, які отримували плацебо (фізіологічний розчин 1,0 мл), 2-а група – тварини, які зазнали евтаназії відразу після введення ЛЗ, 3-я – тварини, які зазнали евтаназії через 24 год. після введення ЛЗ, 4-а – тварини, яким проводили евтаназію через 48 год. після введення ЛЗ (рис. 1).

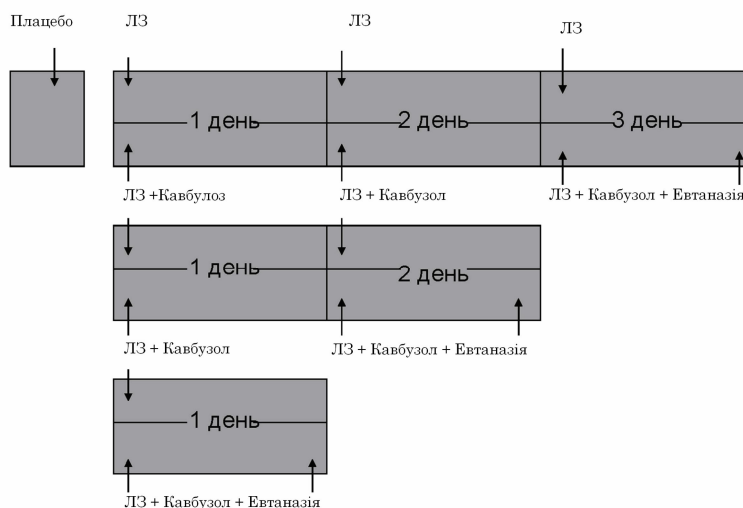


Рис. 1. Методологія експерименту

Серологічний вміст у плазмі IL-1 β (rat) EIA kit (*EnzoLife Sciences*, Велика Британія) і GRO/CINC-1 (rat) EIA kit (*EnzoLife Sciences*, Велика Британія), визначали методом *ELISA* за інструкцією виробника.

Статистичний аналіз отриманих результатів проведено за допомогою програми «Statistica 5,5» (США) з обчисленням середньоарифметичного і стандартного відхилення, похибки, порівняння середніх значень двох вибірок за допомогою *t*-критерію ($p < 0,05$).

Результати дослідження та їх обговорення. Дані про зміни серологічного вмісту IL-1 β та GRO/CINC-1 у щурів у різних експериментальних груп наведено на рис. 2, 3, 4. У тварин 1-ої контрольної групи концентрація IL-1 β у сироватці крові склала $53,3 \pm 9,59$ пг/мл, GRO/CINC-1 – $359,17 \pm 23,25$ пг/мл. Вплив А реалізувався у динаміці змін цитокінів, коли застосування А призвело до збільшення IL-1 β на 32,8% через 24 год. та

GRO/CINC-1 на 13,9% через 48 год. ($p < 0,05$). У той час як застосування Кавбузолу сприяло зменшенню вмісту IL-1 β через 48 год. до $23,57 \pm 5,44$ пг/мл порівняно до групи контролю, тоді як вміст GRO/CINC-1 через 48 год. склав $659 \pm 23,26$ пг/мл, що було обґрунтовано нами, як протизапальний ефект ($p < 0,05$). При модифікації активності ЕСРН шляхом поєднаного інгібування холінергічного та гістамінергічного компоненту шлункової секреції простежено стрімку динаміку наростання вмісту IL-1 β через 48 год. у 2,6 разів щодо групи контролю, у той час як вміст GRO/CINC-1 досягав найбільших значень у тварин через 24 год. і залишався практично без змін через 48 год.. При цьому у тварин із корекцією каубвзолу не простежувалась суттєві зміни порівняно до групи контролю, що підтверджує захисний протизапальний вплив досліджуваного рослинного засобу.

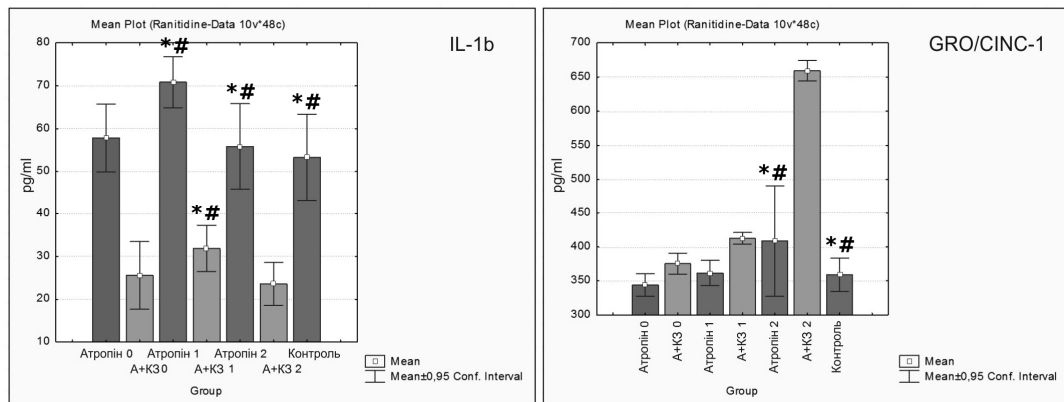


Рис. 2. Зміни серологічного вмісту IL-1 β та GRO/CINC-1 у щурів, яким вводили атропін та проводили корекцію кавбузолом у порівнянні до групи контролю

* – $p < 0,05$, # – $p < 0,01$

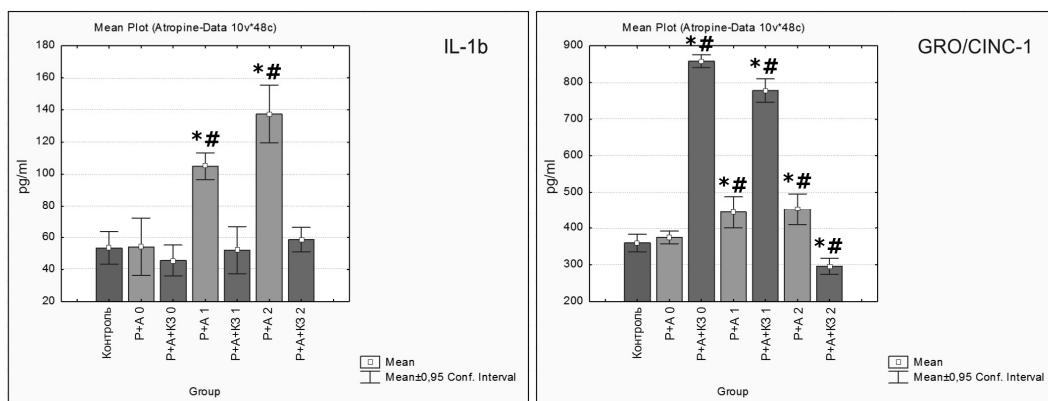


Рис. 3. Зміни серологічного вмісту IL-1 β та GRO/CINC-1 у щурів, яким вводили комбінацію А з Р та проводили корекцію кавбузолом у порівнянні до групи контролю

* – $p < 0,05$, # – $p < 0,01$

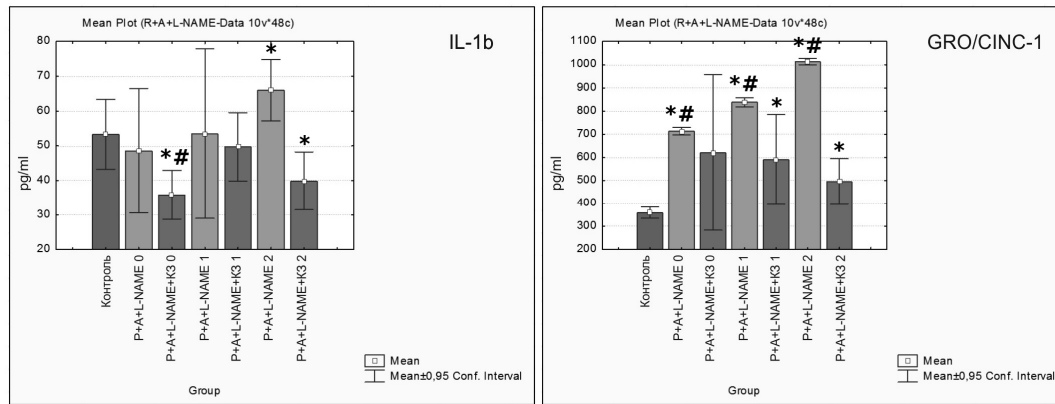


Рис. 4. Зміни серологічного вмісту IL-1 β та GRO/CINC-1 у щурів, яким вводили комбінацію А, Р і L-NAME та проводили корекцію кавбузолом у порівнянні до групи контролю
* – $p < 0,05$, # – $p < 0,01$

Зміни вмісту GRO/CINC-1 підтверджують його значення, як маркера швидкого реагування, оскільки максимальне збільшення виявлено через 24 год. У випадку застосування кавбузолу отримано аналогічну тенденцію у змінах прозапальної секреції, як для GRO/CINC-1, так і для IL-1 β . При поєднанні комбінованого фактору інгібування (А+Р) з нітрогенергічним гальмуванням у 3-ій серії досліджень виявлено подібну динаміку секреції обох цитокінів, коли 3-ох денне застосування засобів викликало максимальне збільшення IL-1 β і GRO/CINC-1 на 23% і 181%, у той час як IL-1 β $66,00 \pm 9,58$ пг/мл та GRO/CINC-1 $1012,58 \pm 23,26$ пг/мл ($p < 0,05$). Одержані дані переконано підтверджують процес активізації прозапальних чинників у разі моделювання активності ЕСРН. Така модель відіграє роль ініціюючого фактору у розвитку деструктивних уражень ШКТ, які утотожуються з клінічни-

ми проявами неерозивного рефлюкс-езофагіту внаслідок порушення активності природних захисних властивостей. Згідно наукових даних, такі порушення супроводжуються змінами редокс статусу та мембрано-асоційованого регулювання цілісності епітеліального бар'єру слизової оболонки ШКТ. Наведені вище прояви обґрунтовані нами, як факт зниження резистентності слизової оболонки ШКТ за рахунок ендотеліальної дисфункції внаслідок порушення ентросалівавторної рециркуляції нітритів, надлишкової продукції прозапальних цитокінів та зміни цитопротекторного впливу слини^{5,7,8}. Одержані результати підтвердили нашу гіпотезу про потенційний протизапальний ефект кавбузолу за умов гальмування шлункової секреції та визначили перспективні напрямки подальших досліджень щодо можливості використання його в якості модулятора активності ЕСРН.

Висновки:

1. Результати дослідження показали, що ентросалівавторна рециркуляція нітритів є потужним компонентом цитопротекції проксимального відділу шлунково-кишкового тракту, дисфункція якої призводить до індукції запалення, що є потенційним фактором виникнення ульцерогенезу у шлунково-кишковому тракту.
2. Встановлено, що лікарські засоби із кавбузу (кавбузол) запобігають розвитку прозапальних реакцій, що створює передумови до застосування цих ліків як перспективних репаративних засобів рослинного походження.

Література:

1. Заячківська О.С. Амарант: наукові досягнення і перспективи використання в медицині / О.С. Заячківська, О.Р. Козак // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 1997. – №2. – С.36-41.
2. Модельні дослідження участі оксиду азоту, простаноїдів і глюкокортикоидів епітеліального бар'єру стравоходу в процесі езофагоротекції / О.С. Заячківська, М.Р. Гжегоцький, З. Слівовський [та інші.] // Лікарська справа. – 2006. – №7. – С.35-41.

3. *Потопальський А.І.* Кавбуз – найбільша у світі цілюща ягода / *А.І. Потопальський, Л.Н. Юркевич, І.І. Воробйова.* – Вінниця: Нова книга, 2004. – 80 с.
4. *Пишк-Тітко І.О.* Експериментальне визначення впливу екстракту насіння кавбуза на загоєння стрес-індукованих уражень слизової оболонки ротової порожнини і стравоходу / *І.О. Пишк-Тітко, О.С. Заячківська, М.Р. Гзегоцький* // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2010. – №3. – С.49-53.
5. *Штанова Л.Я.* Ефекти екзогенного та ендогенного оксиду азоту на кислую шлункову секрецію у щурів / *Л.Я. Штанова* // Фізика живої. – 2008. – Т.16, №11. – С.128-133.
6. Grapefruit-seed extract attenuates ethanol – and stress-induced gastric lesions via activation of prostaglandin, nitric oxide and sensory nerve pathways / *T. Brzozowski, P.C. Konturek, D. Drozdowicz [et al.]* // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – V. 11, № 41. – P.6450–6458
7. Evaluation of bacterial nitrate reduction in the human oral cavity / *J.J. Doel, N. Benjamin, H.M. Pritchard [et al.]* // *Europ J Oral Sci.* – 2005. – Vol.113(Suppl. 1). – P.14-19.
8. *Ishiwata H.M.* Studies on in vivo formation of nitroso compounds: Nitrite and nitrate concentrations in human saliva collected from salivary ducts / *H. Ishiwata, A. Tanimura, M. Ishidate* // *J. Food Hyg. Soc. Jap.*–1975. – Vol.16. – P.89-92.
9. *Parsons M.E.* Histamine and its receptors / *M.E. Parsons, C.R. Ganellin* // *Br. J. Pharmacol.* – 2006. – Vol.147(Suppl 1). – P.127-135.
10. *Paterson S.* Studies of dietary nitrate induced nitrosative stress in the upper gastrointestinal tract. PhD thesis / *S. Paterson*, University of Glasgow, 2008. – 128 p.
11. *Sasaki T.* Formation of nitrite from nitrate at the dorsum linguae / *T. Sasaki, K. Matano* // *J. Food. Hyg. Soc. Jap.* – 1979. – Vol.20. – P.363-369.
12. *Zayachkivska O.S.* Influence of Viburnum Opulus proanthocyanidins on stress-induced gastrointestinal mucosal damage / *O.S. Zayachkivska, M.R. Gzhegotsky, O.I. Terletska* // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2006. – V.57, №5. – P.155-167.
13. *Zayachkivska O.* Physiopathology of esophageal inflammation, ulcerogenesis and repair by studying the profile of glycoconjugate / *O. Zayachkivska* // *Cell/Tissue Injury and Cytoprotection/Organoprotection in the Gastrointestinal Tract: Mechanisms, Prevention and Treatment/ Front Gastrointest Res.* – Basel, Karger 2012. – Vol.30. – P.148-160.
14. *Zayachkivska O.* Role of endogenous salivary bioregulators in forming esophagus protection in experimental injury of esophagus / *O. Zayachkivska* // *Contemporary Gastroenterol.* – 2006. – №4. – P.65-71.

УДК 616.311.2+616.329)-002-092616.014.6/.015.113

ОСОБЕННОСТИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭНТЕРОСАЛИВАТОРНОЙ РЕЦИРКУЛЯЦИИ НИТРИТОВ

И.О. Пишк-Тітко

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, г. Львов, Украина

Резюме: В работе установлена роль энтеросаливаторной рециркуляции нитритов, компонента цитопротекции и формирователя барьерной функции пищеварительной системы, в развитии провоспалительных реакций и цитокиновой секреции IL-1β и GRO/CINC-1 в условиях применения ингибиторов протонного насоса и доказана эффективность употребления отечественного препарата кавбузол при описанных повреждениях.

Ключевые слова: энтеросаливаторная рециркуляция нитритов, IL-1β, GRO/CINC-1, воспаление, гипоацидная желудочная секреция, цитопротекция, растительное средство противовоспалительного действия

UDC 616.311.2+616.329)-002-092616.014.6/.015.113

SPECIAL FEATURES OF PROINFLAMMATORY REACTIONS UNDER THE CONDITIONS OF MODELLING THE ACTIVITY OF ENTEROSALIVARY RECIRCULATION OF NITRITES

I.O. Pshyk-Titko

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Summary: The article ascertains the role of enterosalivary recirculation of nitrites, a component of cytoprotection forming the barrier function of the digestive system, in the development of proinflammatory reactions in IL-1β and GRO/CINC-1 cytokine secretion in the case of using gastric secretion inhibitors, and proves the effectiveness of using a domestic herbal medicine kavbuzol in the treatment of the described injuries.

Keywords: enterosalivary nitrites recirculation, IL-1β, GRO/CINC-1, inflammation, hypoacidic gastric secretion, cytoprotection, plant originated anti-inflammatory drug

Надійшла до редакції 10.02.2013 р.

ISSN 2070-3112

«Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація»

2012, №4