

УДК: [611.316 – 092.9:615.243]:615.372

**Сухомлин А.А.**

## **ВПЛИВ МЕЛАНІНУ НА АКТИВНІСТЬ ОРНІТИНДЕКАРБОКСИЛАЗИ ТА $\alpha$ -АМІЛАЗИ В ТКАНИНАХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ**

ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія”, м.Полтава

*Експерименти виконані на 35 білих щурах-самцях. За умов тривалого застосування інгібіторів протонної помпи розвивається гіпоацидитет і, як наслідок, гіпергастринемія. В умовах омепразол-індукованої гіпергастринемії виникають патологічні зміни в тканинах слинних залоз щурів – дисбаланс регуляторних систем та зниження функціональних резервів тканин слинних залоз. Застосування меланіну нормалізує систему регуляторних поліамінів та синтез білка.*

Ключові слова: слинні залози, омепразол, гіпергастринемія, поліаміни, меланін.

Планова НДР: «Роль біорегуляторів у механізмі розвитку патологічних змін органів системи травлення», №109U007982.

### **Вступ**

На теперішній час захворювання шлунково-кишкового тракту займають третє місце в загальній структурі захворюваності і їх розповсюдженість постійно зростає. Для лікування кислотозалежних захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ) широко застосовуються антацидні засоби, серед яких провідну роль відіграють інгібітори протонної помпи (ІПП). Довготривале застосування ІПП має негативні наслідки, зокрема, розвиток гіпергастринемії [14]. Загальновідомо, що за умов трофічної та мітогенної дії гастрину є ризик розвитку онкологічних захворювань ШКТ [8, 9]. Механізм розвитку гіпергастринемії, перш за все, полягає в довготривалому застосуванні ІПП, які шляхом пригнічення  $H^+/K^+$ -АТФази призводять до гіпоацидитету, що стимулює G-клітини антрального відділу шлунку секретувати гастрин.

Меланіни – клас органічних сполук, які є похідними ароматичних амінокислот. Найзвичайнішою формою меланінів в біологічних тканинах є еумеланін, коричнево-чорний полімер дігідроксиіндола, дігідроксиіндолкарбоксиллової кислоти та їх відновлені форми. Збільшення синтезу меланіну стимулюється пошкодженням ДНК ультрафіолетовим випромінюванням [1, 12].

Фотохімічні властивості меланіну роблять його добрим фотопротектантом. Він поглинає шкідливе ультрафіолетове випромінювання та перетворює енергію на безпечну кількість тепла в процесі, відомому як «ультрашвидка внутрішня конверсія». Завдяки цій властивості, меланін поглинає до 99.9 % ультрафіолету і утримує утворення вільних радикалів на мінімальному рівні, запобігаючи пошкодженню ДНК [11].

Меланін також володіє вираженою цитопротекторною дією на слизову оболонку шлунка щурів, знижуючи активність процесів перекисного окиснення ліпідів та збільшує активність ферментів антиоксидантної системи [5].

### **Мета**

Обґрунтування експериментальної корекції патологічних змін в тканинах слинних залоз за

умов омепразол-індукованої гіпергастринемії меланіном.

### **Матеріали і методи**

Експерименти виконані на 35 білих щурах-самцях, вагою 180-220г з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією. Тварин утримували на звичайному раціоні в стандартних умовах віварію [2]. Дослідним тваринам протягом 28 днів внутрішньоочеревинно вводили омепразол (“Sigma”, США) дозою 14 мг/кг, меланін (5 мг/кг маси тіла перорально) окремо та в поєднанні. Контрольним щурам протягом 28 днів внутрішньоочеревинно вводили 0,2 мл води для ін’єкцій. По завершенню експерименту щурам вранці натщесерце проводили евтаназію під уретановим наркозом (50 мг/кг маси тіла внутрішньоочеревинно) шляхом кровопускання та збирали кров для визначення вмісту гастрину радіоімунологічним методом за допомогою аналітичного набору “MP Biomedicals, LLC” (USA). Об’єктами дослідження були піднижньощелепні слинні залози, в гомогенаті яких визначали активність орнітиндекарбоксилази [10] та  $\alpha$ -амілази [4].

### **Результати дослідження та їх обговорення**

Для оцінки синтезу регуляторних поліамінів та білоксинтезуючої функції слинних залоз досліджували активність орнітиндекарбоксилази та  $\alpha$ -амілази за умов тривалого введення омепразолу. Орнітиндекарбоксилаза є ключовим ферментом синтезу регуляторних поліамінів таких як путресцин, спермін, спермідин та інших, які регулюють процеси реплікації та транскрипції і, як наслідок, проліферацію клітин та синтез білків. Також в ряді досліджень встановлена роль орнітиндекарбоксилази в механізмі дії фактору росту епідерміса (ФРЕ). В цих дослідженнях було показано, що ФРЕ підвищує активність орнітиндекарбоксилази та стимулює транспорт путресцину в фібробластах людини *in vitro*. Також активність орнітиндекарбоксилази в клітинах феохромацитомі PC12 підсилюється цАМФ та гальмується путресцином. Наявні також дані про роль

поліамінів, пов'язаних з орнітиндекарбоксилазою в механізмі дії ФРЕ [6, 13].

Поліаміни є важливими полікатионами клітини, вони беруть участь у процесах росту та диференціювання клітин, регуляції білкового синтезу [2], запрограмованій загибелі клітини [6], а також відіграють суттєву роль у регуляції транспорту  $Ca^{2+}$  в мітохондрії [13].

Відомо, що поліаміни здійснюють вплив на різноманітні ферменти, що беруть участь в синтезі ДНК. В досліджах *in vitro* поліаміни стимулюють активність ДНК-залежної РНК-полімерази [2]. Суттєва роль поліамінів полягає в ініціації синтезу пептидів шляхом зміни конформації рибосом [13].

Під впливом на організм факторів оточуючого середовища відбуваються значні зміни метабо-

лізму в цілому, перш за все, в обміні білків та нуклеїнових кислот. Певну роль в цьому відіграють і поліаміни. Для дослідження обміну поліамінів в тканинах слинних залоз щурів в умовах омепразол-індукованої гіпергастринемії використали дослідження активності орнітиндекарбоксилази, яка каталізує ключову реакцію синтезу поліамінів – декарбоксилювання орнітину з утворенням путресцину, який приймає участь у регуляції біологічних процесів та є попередником синтезу інших поліамінів [6].

Функціональні можливості слинних залоз можна оцінити за допомогою дослідження активності  $\alpha$ -амілази в тканинах слинних залоз щурів, яка є металоферментом, що має четвертинну структуру [7].

Таблиця 1.  
Активність орнітиндекарбоксилази та  $\alpha$ -амілази в тканинах слинних залоз за умов гіпергастринемії та її корекції меланіном, ( $M \pm m$ )

Групи тварин	Активність орнітиндекарбоксилази, нмоль/г*хв	Активність $\alpha$ -амілази, мг/год*г
1. Контроль (n=12)	269,0 $\pm$ 8,0	71,9 $\pm$ 2,0
2. Омепразол 28 дб (n=17)	244,5 $\pm$ 10,5	81,7 $\pm$ 2,2
3. Омепразол + меланін 28 дб (n=6)	301,2 $\pm$ 11,9	86,6 $\pm$ 1,7
Статистичний показник $\Sigma=35$	$P_{1-2}<0,05$ $P_{1-3}<0,05$ $P_{2-3}<0,05$	$P_{1-2}<0,05$ $P_{1-3}<0,05$ $P_{2-3}<0,05$

Примітка: n- кількість тварин

Нами встановлено, що на 28 день введення омепразолу активність орнітиндекарбоксилази в слинних залозах вірогідно знизилась в 1,1 рази порівняно з контролем ( $p<0,05$ ). Використання меланіну на 28 добу введення омепразолу сприяє вірогідному зростанню в 1,23 рази активності орнітиндекарбоксилази порівняно з тваринами без корекції ( $p<0,05$ ). Аналізуючи активність  $\alpha$ -амілази в тканинах слинних залоз щурів за умов введення ІПП, встановили, що на всіх етапах експерименту її активність вірогідно зростає порівняно з контролем, а за умов використання меланіну активність  $\alpha$ -амілази була в 1,06 рази вище, ніж у щурів без корекції (табл. 1).

Отже, за умов корекції гіпергастринемії меланіном відбувається нормалізація синтезу регуляторних поліамінів, білків та нуклеїнових кислот.

### Висновки

Тривале застосування омепразолу призводить до достовірного підвищення вмісту в плазмі крові гастрину і, як наслідок, до патологічних змін в тканинах слинних залоз щурів, а саме: до дисбалансу регуляторних поліамінів та підвищення синтезу білків у тканинах слинних залоз. Корекція омепразол-індукованої гіпергастринемії із застосуванням меланіну сприяє нормалізації активності орнітиндекарбоксилази, синтезу регуляторних поліамінів та підвищенню функціональних резервів тканин слинних залоз щурів.

### Література

1. Борщевская М.И. Развитие представлений о биохимии и фармакологии меланиновых пигментов / М.И.Борщевская,

С.М.Васильева // Вопросы медицинской химии. – 1999. – №1. – С.13-18.

2. Гусейнов Г.О. Роль полиаминов в защите организма при экстремальных воздействиях / Г.О.Гусейнов, И.А. Исмаилов // Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии : Сборник научных работ. – Томск, 2004. – С.412-414.

3. Денисов А.Б. Слюнные железы. Слюна. Часть 2 Методы моделирования физиологических и патологических процессов / Денисов А.Б. – М. : Издательство РАМН, 2003. – 60 с.

4. Лабораторные методы исследования в клинике / [В.В.Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотиницкая и др.]. – М. : Медицина, 1987. – 368 с.

5. Савицький Я.М. Вплив меланіну на секреторну функцію шлунка, процеси цитопротекції та моторику проксимального відділу травної системи : Дис. канд. мед. наук / Савицький Я.М. – Львів, 2002. – 133 с.

6. Сукманский О.И. Биологически активные вещества слюнных желез / Сукманский О.И. – К. : Здоровья, 1991. – 112 с.

7. Тарасенко Л.М. Слюнные железы (биохимия, физиология, клинические аспекты) / Л.М.Тарасенко, Г.А.Суханова, В.П.Мищенко, К.С.Непорада – Томск : Издательство НТЛ, 2002. – 124 с. : ил.

8. Уголев А.М. Гормоны пищеварительной системы: физиология, патология, теория функциональных блоков / А.М.Уголев, О.С. Радбиль. – М. : Наука, 1995. – 283 с.

9. Халтурин В.Ю. Клиническая оценка роли гастринемии и чувствительности к гастрину при раке толстой кишки / В.Ю. Халтурин, В.Б. Гамаюнова, Л.М. Берштейн // Вопр. онкологии. – 1997. – Т.43 (6). – С. 575-579.

10. Храмов В.А. Простой метод определения активности орнитиндекарбоксилазы в смешанной слюне человека / В.А. Храмов // Клин. лаб. диагностика. – 1997. – №4. – С. 14-15.

11. Agar N. Melanogenesis: a photoprotective response to DNA damage? / N.Agar, A.R.Young // Mutation research. – 2005. – Т. 571. – С. 121-132.

12. Meredith P. Radiative relaxation quantum yields for synthetic eumelanin / P.Meredith, J. Riesz // Photochemistry and photobiology. – 2004. – Т. 79. – С. 211-216.

13. Morgan David M.L. Polyamine Protocols / M.L. Morgan David // Humana Press Inc. Totawa. Methods in Molecular Biology. – 1997. – V. 79. – 183 p.

14. Olbe L. Effect of omeprazole on gastric acid secretion and plasma gastrin in man / L. Olbe, C. Cederberg, T. Lind, M. Olausson // Scand J.Gastroenterology. – 1989. – V.24, №166. – P.27-32.

### Реферат

ВЛИЯНИЕ МЕЛАНИНА НА АКТИВНОСТЬ ОРНИТИНДЕКАРБОКСИЛАЗЫ И  $\alpha$ -АМИЛАЗЫ В ТКАНЯХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГАСТРИНЕМИИ

Сухомлин А.А.

Ключевые слова: слюнные железы, омепразол, гипергастринемия, полиамины, меланин.

Эксперименты выполнены на 35 белых крысах-самцах. При длительном использовании ингибиторов протонной помпы развивается гипоацидитет и, как следствие, гипергастринемия. В условиях омепразол-индуцированной гипергастринемии возникают патологические изменения в тканях слюнных желез – дисбаланс регуляторных систем и снижение функциональных резервов тканей слюнных желез. Применение меланина нормализует систему регуляторных полиаминов и белков.

### Summary

INFLUENCE OF MELANIN ON ACTIVITY OF ORNITHINE DECARBOXYLASE AND  $\alpha$ -AMYLASE IN SALIVARY GLANDS UNDER HYPERGASTRINEMIA

Sukhomlyn A.A.

Keywords: salivary glands, omeprazole, hypergastrinemia, polyamines, melanin.

Experiments were carried out on 35 rats. We determine the activity of ornithinedecarboxylase and  $\alpha$ -amylase in homogenate of salivary glands. Prolonged use of proton pump inhibitors resulted in the development of hypoacidity and hypergastrinemia as a consequence. In conditions of prolong omeprazole administration salivary glands developed the following pathological change as the imbalance of polyamines and protein synthesis. The administration of melanin normalizes the system of regulatory polyamines and proteins.

УДК : 616.24-092.9-001.29:577.125

Сухомлин Т.А.

## ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ЛЕГЕНЕВІЙ ТКАНИНІ ЩУРІВ В УМОВАХ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

*При експериментальній опіковій хворобі у щурів визначено підвищення рівня лактату при одночасному зниженні пірувату в гомогенаті легень. Розвиток лактоацидозу є важливим механізмом виникнення патологічних змін легеневої тканини при опіковій хворобі. Експериментальна корекція препаратом «Ліпін» призвела до нормалізації показників вуглеводного обміну в тканинах легень.*

Ключові слова: експериментальна опікова хвороба, легені, піруват, лактат, ліпін

*Робота є фрагментом НДР «Біохімічні і патофізіологічні механізми ушкодження внутрішніх органів при опіковій хворобі», державний реєстраційний номер №0111U005142.*

### Вступ

Опікова хвороба та синдром поліорганної недостатності, до якого вона призводить, є однією з актуальних проблем сучасної комбустіології. В структурі синдрому поліорганної недостатності ушкодження легень посідає важливе місце [8, 10]. При приєднанні легеневих ускладнень значно зростає летальність, що робить важливим питання профілактики ушкоджень легень при опіковій хворобі [3, 14]. Патологічні зміни, що розвиваються при опіковій хворобі, впливають на перебіг метаболічних процесів в тканинах легень, в тому числі на вміст субстратів і кінцевих продуктів гліколізу [5]. Вивчення змін вуглеводного обміну, зокрема співвідношення рівня пірвіноградної та молочної кислоти як маркерів оксидативної стадії метаболізму вуглеводів, сприятиме пошуку шляхів корекції патологічних змін [7].

### Мета

Метою дослідження було вивчення впливу препарату «Ліпін» на зміни вуглеводного обміну в легенях щурів в умовах експериментальної

опікової хвороби (ЕОХ) в докладній динаміці.

### Матеріали і методи

Експерименти було виконано на 112 білих щурах-самцях, вагою 180-200г, з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з Міжнародними принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин. Щурів утримували на звичайному раціоні, в стандартних умовах віварію. У тварин моделювали опікову хворобу за методом Довганського [1] шляхом занурення епільованої шкіри задньої кінцівки у гарячу воду ( $t +70-75$  C) протягом 7 сек, під легким ефірним наркозом. За таких умов утворювався опік IIIA-B ступеню, площа якого становила 12-15% поверхні тіла тварини. Площу ураження розраховували за допомогою спеціальної таблиці М.І. Кочетигова [4]. Евтаназію тварин проводили під ефірним наркозом на 1-у, 7-у, 14-у, 21-у, 28-у добу, що відповідає стадіям опікового шоку, токсемії та септико-токсемії [6]. Препарат «Ліпін» вводили внутрішньоочередовно в дозі 0,8 ммоль/кг відразу після моделювання ЕОХ. В гомогенаті легеневої тка-