ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА ТА МОРФОЛОГІЯ

УДК 616.152-008.9-092.9:615.916`175

Акімов О.Є., Ковальова І.О., Костенко В.О.

ФУНКЦІОНУВАННЯ АРГІНАЗНОГО ТА NO-СИНТАЗНОГО ШЛЯХУ МЕТАБОЛІЗМУ L-АРГІНІНУ В КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОГО НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ НІТРАТУ ТА ФТОРИДУ НАТРІЮ ТА ЗАСТОСУВАННЯ СУСПЕНЗІЇ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Досліджено функціонування аргіназного та NO-синтазного шляху метаболізму L-аргініну за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію, за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та суспензії нанодисперсного кремнезему та окремого надлишкового надходження натрію нітрату та натрію фториду протягом 30 діб. Встановлено, що надлишкове надходження фториду натрію протягом 30 діб підвищує загальну активність NO-синтазного шляху метаболізму L-аргініну, але знижує загальну активність аргіназного шляху. Надлишкове надходження нітрату натрію знижує загальну активність аргіназного шляху. Поєднане надлишкове надходження нітрату та фториду знижує загальну активність NO-синтазного шляху метаболізму L-аргініну. Застосування суспензії нанодисперсного кремнезему в якості сорбенту збільшує загальну активність NO-синтаз, але знижує загальну активність аргіназ.

Ключові слова: нітрат натрію, фторид натрію, L-аргінін, NO-синтаза, аргіназа, нанодисперсний кремнезем.

Стаття є фрагментом планової НДР ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» "Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу" (№ держреєстрації 0114U004941).

Вступ

L-аргінін – амінокислота, що відіграє важливу роль в гомеостазі людини та інших ссавців. В організмі L-аргінін піддається ферментативному розщепленню за двома основними шляхами. Перший – NO-синтазний шлях метаболізму. Він регулюється ферментом NO-синтазою (EC 1.14.13.39). Виділяють три ізоформи NO-синтази: індуцибельну (iNOS), нейрональну (nNOS) та ендотеліальну (eNOS). Нейрональна та ендотеліальна NO-синтази є Ca^{2+} залежними ферментами, а індуцибельна NO-синтаза є Ca^{2+} незалежною. Важливою особливістю індуцибельної NO-синтази є те, що вона знаходиться здебільшого в клітинах макрофагального типу і активується під час запалення. Спільним в діяльності NO-синтаз є продукти, що утворюються із L-аргініну за їх участі: L-цитрулін та оксид азоту ($NO^{\cdot}$). Оксид азоту є важливим біологічним регуляторним агентом, що здатен розслабляти гладеньку мускулатуру ендотелію судин, стимулюючи тим самим кровонаповнення органу. Але у оксиду азоту є і негативні риси, при його взаємодії із супероксидним аніон-радикалом відбувається синтез токсичного метаболіту циклу оксиду азоту – пероксинітриту ($ONOO^-$). Пероксинітрит здатен ініціювати перекисне окиснення ліпідів клітинних мембран, викликаючи цим ушкодження клітини та її органел. Функціональний стан NO-синтазного шляху метаболізму L-аргініну детально вивчався в останнє десятиліття, але в останні роки все більшу увагу привертає до себе інший шлях метаболізму L-аргініну – аргіназний [10,15,16,17]. Цей шлях регулюється іншою групою ферментів – аргіназами (EC 3.5.3.1) [5], виділяють дві ізоформи аргінази: аргіназа-1 та аргіназа-2 [5]. При активації аргіназозалежного метаболізму L-аргініну утворюється сечовина та L-орнітин. Аргінази та NO-синтази є конкурентними ферментами, що конкурують за спільний субстрат - L-аргінін [6,8]. Є дані про те, що аргінази в декілька разів активніші (за швидкістю реакції) за NO-синтази. Але у фізіологічних умовах переважає NO-синтазний шлях метаболізму L-аргініну. Це пов'язане з інгібіторним впливом одного із продуктів NO-синтазного шляху – оксиду азоту. При достатній його кількості аргінази залишаються практично неактивними [8]. Слід зазначити, що NO-синтазний шлях метаболізму L-аргініну є не єдиним джерелом ендогенного оксиду азоту. Існує також і нітрат-нітрит редуктазний шлях утворення оксиду азоту, що є значно потужнішим [2,7,11,12,13,14]. Тому в останні роки проводяться дослідження із вивчення функції цього шляху отримання оксиду азоту в нормі та при різних патологічних станах [11,12,13,14]. Активацію цього шляху проводять

введенням в організм екзогенних нітратів (NO_3^-) [12,13,14]. При цьому йде їх перетворення спочатку у нітрити (NO_2^-), а потім із нітритів утворюється безпосередньо оксид азоту ($NO^{\cdot}$) [7,11]. Деякі речовини, наприклад, іони фтору, при надлишковому надходженні здатні збільшувати генерацію супероксидних аніон-радикалів, створюючи при цьому умови, за яких оксид азоту іде не на виконання регуляторних функцій, а на синтез пероксинітриту [9]. Є інформація про ефективні сорбційні якості суспензії нанодисперсного кремнезему по відношенню до іонів фтору та нітрат-іонів [1]. На даний час недостатньо вивчено функціонування аргіназного шляху метаболізму L-аргініну за умов надлишкового надходження іонів фтору та поєднаної фторидно-нітратної інтоксикації. Функціонування NO-синтазного шляху метаболізму L-аргініну за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію також вивчено в недостатній мірі. В роботі вперше вивчається функціонування аргіназного та NO-синтазного шляхів за умов застосування нанодисперсного кремнезему у вигляді 5 % суспензії на 0,5 % поліетиленоксиді-400 (ПЕО-400).

Мета роботи

Дослідити зміни у функціональному стані NO-синтазного та аргіназного шляху метаболізму L-аргініну в крові щурів за наступних умов: при надмірному введенні надлишкової кількості нітрату натрію; за умов надлишкового надходження іонів фтору; за умов поєднаного надлишкового надходження фториду та нітрату натрію; за умов поєднаного надлишкового надходження фториду та нітрату натрію та застосуванні 5 % суспензії нанодисперсного кремнезему на 0,5 % ПЕО-400 в якості сорбенту.

Матеріали та методи

Досліди проведені на 61 статевозрілому щурі лінії Вістар обох статей вагою 200-250 г., яких утримували за стандартних умов віварію. Хронічне надлишкове надходження нітратів та фторидів та їх поєднане надходження моделювали шляхом введення нітратів через шлунковий зонд із розрахунку 500 мг/кг, фторидів із розрахунку 10 мг/кг. Загальний об'єм введеної рідини за один раз не перевищував 1 мл для запобігання перерозтягнення шлунку щурів. Нітрати та фториди вводили протягом 30 днів. Всі маніпуляції проводились згідно «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей». Виведення тварин із експерименту проводилось під тіопенталовим наркозом шляхом забору крові із правого шлуночка серця, ця кров в подальшому використовувалась для проведення біохімічних досліджень. Тварини були розділені на чотири групи :

1) перша – інтактні тварини, що утримувались за стандартних умов віварію, 10 тварин.

2) друга – тварини, яким натщесерце вводили через шлунковий зонд розчин натрію фториду із розрахунку 10 мг/кг, 12 тварин.

3) третя – тварини, яким натщесерце вводили через шлунковий зонд розчин натрію нітрату із розрахунку 500 мг/кг, 14 тварин.

4) четверта – тварини, яким натщесерце вводили через шлунковий зонд розчин, що містить натрію нітрату та фториду із розрахунку 500 мг/кг та 10 мг/кг відповідно, 15 тварин.

5) п'ята – тварини, яким натщесерце вводили через шлунковий зонд розчин, що містить натрію нітрату та фториду із розрахунку 500 мг/кг та 10 мг/кг відповідно, а потім через 5 хв. вводили 5 % суспензію нанодисперсного кремнезему на 0,5 % ПЕО-400 із розрахунку 100 мг/кг діючої речовини, 10 тварин.

Загальну NO-синтазну активність визначали за різницею концентрації нітритів при інкубації проби протягом 30 хв. при t=37°С в присутності 1 mM розчину НАДФН$_2$ та 320 mM розчину L-аргініну (інкубаційне середовище) в трис-буфері (pH=7,4). Практично загальну активність NO-синтази визначали наступним чином: до 0,2 мл попередньо гемолізованої крові додавали 2,5 мл буферного розчину, 0,3 мл 320 mM розчину L-аргініну та 0,1 мл 1 mM розчину НАДФН$_2$. Після перемішування відбирали 0,2 мл для визначення вихідної концентрації нітритів. Після інкубації реакцію зупиняли внесенням 0,02 мл 0,02% розчину натрію азиду. Відбирали 0,2 мл для визначення кінцевої концентрації нітритів.

Концентрацію нітритів визначали по кольоровій реакції із сульфаніловою кислотою та 1-нафтилендіаміном [3]. До 0,2 мл проби додавали 1 мл 1% сульфанілової кислоти, після інкубації протягом 10 хв. в темному місці при температурі t=20°С додавали 1 мл 1% розчину 1-нафтилендіаміну та інкубували при температурі t=20°С 10 хв. Потім відбирали 2 мл рідини та фотометрували в кюветі із довжиною оптичного шляху 10 мм проти води при довжині хвилі 540 нм. Залежність поглинання кольоровими сполуками від концентрації лінійна. Коефіцієнт молярної екстинкції для діазосполук, що утворились в реакції сульфанілової ксилоти, нітритів та 1-нафтилендіаму при довжині хвилі в 540 нм складає $\varepsilon = 4{,}0 \cdot 10^4$ л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$.

Загальну активність аргіназного шляху визначали за приростом концентрації L-орнітину, після 20-годинної інкубації в фосфатному буферному розчині (pH=7,0) та присутності 0,024 М розчину L-аргініну [4]. Попередньо необхідно визначити початковий вміст L-орнітину. Для цього до 0,1 мл гемолізованої сироватки крові додавали 0,7 мл буферного розчину, після чого до неї необхідно додати 0,1 мл нінгідринового реактиву

[4] та кип'ятили на водяній бані протягом 1 години для розвитку кольорової реакції. Потім додаємо 1 мл 20% трихлороцтової кислоти для осадження білків. Пробу центрифугують при 3000 об./хв. протягом 45 хв., 1 мл надосадової рідини фотометрують у кюветі із довжиною оптичного шляху 10 мм проти води при довжині хвилі 500 нм. Для визначення кінцевого вмісту L-орнітину до 0,1 мл гемолізованої сироватки крові додавали 0,5 мл буферного розчину та 0,2 мл 0,024 М розчину L-аргініну. Проба інкубується протягом 20 год. при t=37°С. Після чого до неї необхідно додати 0,1 мл нінгідринового реактиву [4] та кип'ятити на водяній бані протягом 1 години для розвитку кольорової реакції. Потім додаємо 1 мл 20% трихлороцтової кислоти для осадження білків. Пробу центрифугують при 3000 об./хв. протягом 45 хв., 1 мл надосадової рідини фотометрують у кюветі із довжиною оптичного шляху 10 мм проти води при довжині хвилі 500 нм. Залежність поглинання від концентрації кольорових речовин лінійна, коефіцієнт молярної екстинкції для продуктів реакції L-орнітину із нінгідрином $\varepsilon = 1{,}1 \cdot 10^4$ л·моль$^{-1}$·см$^{-1}$.

Всі хімічні сполуки були хімічно чисті та придбані у різних постачальників хімічної сировини для лабораторій. Спектрофотометричні дослідження проводились на фотометрі Solar (Білорусь).

Результати досліджень піддавались статистичній обробці. Оскільки результати в кожній групі були розподілені нормально (за результатами тесту Шапіро-Уілка) і вибірки були гомогенні (негативний результат тесту Левена на гомогенність варіант), то для аналізу статистичної значущості результатів був використаний параметричний метод дисперсійного аналізу (ANOVA) та вторинний аналіз за Тюкеєм-Крамером для виявлення статистичної значущості різниці результатів між кожною окремою групою. Для уникнення феномену множинного порівняння була внесена поправка за методом Бонферонi. Різницю вважали статистично значущою при $p<0{,}05$. Статистична обробка проводилась за допомогою пакету Excel та розширення RealStatistic. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних та стандартної похибки.

Результати та їх обговорення

Аналіз результатів по вивченню стану NO-синтазного та аргіназного шляху метаболізму L-аргініну при надмірній активації нітрат-нітрит редуктазного шляху утворення оксиду азоту при введенні надлишкової кількості нітрату натрію показав зниження загальної аргіназної активності на 56% ($p<0{,}01$). Ці дані свідчать про те, що за умов наявності надлишку екзогенних нітратів нітрат-нітритредуктазна система бере на себе основне навантаження по синтезу оксиду азоту, а оскільки оксид азоту наявний у великих кількостях, то аргіназний шлях інгібується [6,8]. При введенні надлишкової кількості фториду натрію спостерігалось підвищення загальної активності NO-синтаз на 59% ($p<0{,}01$), але одночасно спостерігається зниження активності аргіназ на 80% ($p<0{,}01$). Ці зміни пояснюються, з одного боку, переходом частини оксиду азоту в токсичний пероксинітрит [9], що призводить до активізації NO-синтаз; з іншого боку, оскільки NO-синтази та аргінази є конкурентами за L-аргінін, то надмірна активізація NO-синтаз призведе до відсутності субстрату у аргіназ [15]. При поєднаному надлишковому надходженні нітрату та фториду натрію загальна активність NO-синтаз знизилась на 46% ($p<0{,}01$), у той час як загальна активність аргіназ статистично значуще не змінилась. Використання у якості сорбційного засобу суспензії нанодисперсного кремнезему при поєднаному надлишковому надходженні нітрату та фториду натрію збільшує загальну активність NO-синтаз на 44% ($p<0{,}01$), одночасно знижуючи при цьому активність аргіназ на 47% ($p<0{,}01$).

Таблиця 1

Функціональна активність шляхів метаболізму L-аргініну, (M±m)

Групи	Загальна активність NOS, мккат/л	Загальна аргіназна активність, мккат/л
Інтактні (n=10)	193,75±33,3	27,35±5,4
Введення натрію фториду 10 мг/кг, 30 діб (n=12)	307,85±17,84*	6,53±0,52*
Введення натрію нітрату 500 мг/кг, 30 діб (n=14)	156,85±17,44	12,19±1,34*
Введення натрію фториду 10 мг/кг та натрію нітрату 500 мг/кг, 30 діб (n=15)	104,19±14,12*	21,94±3,49
Введення натрію фториду 10 мг/кг та натрію нітрату 500 мг/кг та суспензії нанодисперсного кремнезему 100 мг/кг, 30 діб (n=10)	279±8,21*	14,44±0,7*

** - дані статистично значуще відрізняються від контролю з p<0,01*

Висновки

Хронічне надлишкове введення фториду натрію у кількості 10 мг/кг підвищує загальну активність NO-синтаз, одночасно зменшуючи загальну активність аргіназ. При хронічному надлишковому введенні нітрату натрію у кількості 500 мг/кг загальна активність NO-синтаз статистично значуще не змінюється, а загальна активність аргіназ зменшується. Поєднана активація нітрат-нітрит редуктазної системи із оксидаційним стресом знижує загальну активність NO-синтаз, але статистично значуще не впливає на активність аргіназ. Використання суспензії нанодисперсного кремнезему у якості сорбційного засобу підвищує активність NO-синтаз та знижує активність аргіназ.

Література

1. Ніцак О.В. Експериментальне обґрунтування доцільності використання суспензії нанодисперсного кремнезему як сорбційного засобу : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» // О.В. Ніцак. – К., 2009. – 23с.
2. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / [В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, В.Е. Охотин и др.] // М. : Наука, 1998. – 157 с.
3. Солодков А.П. Фотометрический метод определения нитратов и нитритов в биологических жидкостях / А.П. Солодков, И.С. Веремей, С.С. Осодчук [и др.]// Рекомендации МЗО Беларусь – 2001, Рег. №91-0008
4. Храмов В.А. Модификация метода определения орнитина по Chinard и ее использование для количественного определения сывороточной аргиназы / В.А. Храмов, Г.Г. Листопад // Лабораторное дело. - 1973. - №10. – С 591-592.
5. Ash D.E. Arginase: a binuclear manganese metalloenzyme / D. E. Ash, J. D. Cox, and D. W. Christianson // Metal Ions in Biological Systems. -2000. - №37. – P.407–428.
6. Berkowitz D.E. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels / D. E. Berkowitz, R. White, D. Li [et al.] // Circulation. – 2003. - №108. – P.2000–2006.
7. Carlström M. Cross-talk Between Nitrate-Nitrite-NO and NO SynthasePathways in Control of Vascular NO Homeostasis / M. Carlström, M. Liu, T. Yang [et al.] // Antioxidants & Redox Signaling. – 2015. - №23. – P.295-306.
8. Durante W. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function / W. Durante, F. K. Johnson, R.A. Johnson // Clin. and Exp. Pharmac. & Physiol. – 2007. - № 34. –P. 906–911.
9. Decreau R.A. Three toxic gases meet in the mitochondria [Electronic resource] / R.A. Decreau, J.P. Collman // Front Physiol. – 2015. №6(210) Access mode: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4542460/
10. Grönros J. Arginase inhibition improves coronary microvascular function and reduces infarct size following is chaemiareperfusion in a rat model / J. Grönros, A. Kiss, M. Palmér et al. // Acta Physiologica. – 2013. - №208. – P.172–179.
11. Jansson E.A. A mammalian functional nitrate reductase that regulates nitrite and nitric oxide homeostasis / E.A. Jansson, L. Huang, R. Malkey et al. // Nat. Chem. Biol. – 2008. - №4. – P.411–417.
12. Jin L. Active secretion and protective effect of salivary nitrate against stress in human volunteers and rats / L. Jin, L.Qin, D. Xia [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2013. - №57. – P.61-67.
13. Lundberg J.O. Inorganic nitrate is a possible source for systemic generation of nitric oxide / J.O.Lundberg, M. Govoni // Free Radic. Biol. Med. – 2004. - №37. – P.395–400.
14. Lundberg J.O. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. / J.O. Lundberg, E. Weitzberg, M.T. Gladwin // Nat. Rev. Drug Discovery. – 2008. - № 7. – P.156–167.
15. Pernow J. Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal / J. Pernow, C. Jung // Cardiovas. Res. – 2013. - № 98. – P.334–343.
16. Sikka G. Contribution of arginase activation to vascular dysfunction in cigarette smoking / G. Sikka, D. Pandey, A. K. Bhuniya [et al.] // Atherosclerosis. – 2013. - № 231. – P. 91–94.
17. Shin W.S. Increased arginase II activity contributes to endothelial dysfunction through endothelial nitric oxide synthase uncoupling in aged mice / W. S. Shin, D. E. Berkowitz, S.W. Ryoo // Experimental & Molecular Medicine. – 2013. - №44. – P.594–602.

References

1. Nicak O.V. Eksperimental'ne obr'runtuvannja docil'nosti vikoristannja suspenziї nanodispersnogo kremnezemu jak sorbcijnogo zasobu : avtoref. dis. na zdobuttja nauk. stupenja kand. med. nauk : spec. 14.03.05 «Farmakologija» // O.V. Nicak. – K., 2009. – 23s.
2. Ciklicheskie prevrashhenija oksida azota v organizme mlekopitajushhih / [V.P. Reutov, E.G. Sorokina, V.E. Ohotin i dr.] // M. : Nauka, 1998. – 157 s.
3. Solodkov A.P. Fotometricheskij metod opredelenija nitratov i nitritov v biologicheskih zhidkostjah / A.P. Solodkov, I.S. Veremej, S.S. Osodchuk [i dr.]// Rekomendacii MZO Belarus' – 2001, Reg. №91-0008
4. Hramov V.A. Modifikacija metoda opredelenija ornitina po Chinard i ee ispol'zovanie dlja kolichestvennogo opredelenija syvorotochnoj arginazy / V.A. Hramov, G.G. Listopad // Laboratornoe delo. - 1973. - №10. – S 591-592.
5. Ash D.E. Arginase: a binuclear manganese metalloenzyme / D. E. Ash, J. D. Cox, and D. W. Christianson // Metal Ions in Biological Systems. -2000. - №37. – P.407–428.
6. Berkowitz D.E. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels / D. E. Berkowitz, R. White, D. Li [et al.] // Circulation. – 2003. - №108. – P.2000–2006.
7. Carlström M. Cross-talk Between Nitrate-Nitrite-NO and NO SynthasePathways in Control of Vascular NO Homeostasis / M. Carlström, M. Liu, T. Yang [et al.] // Antioxidants & Redox Signaling. – 2015. - №23. – P.295-306.
8. Durante W. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function / W. Durante, F. K. Johnson, R.A. Johnson // Clin. and Exp. Pharmac. & Physiol. – 2007. - № 34. –P. 906–911.
9. Decreau R.A. Three toxic gases meet in the mitochondria [Electronic resource] / R.A. Decreau, J.P. Collman // Front Physiol. – 2015. №6(210) Access mode: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4542460/
10. Grönros J. Arginase inhibition improves coronary microvascular function and reduces infarct size following is chaemiareperfusion in a rat model / J. Grönros, A. Kiss, M. Palmér et al. // Acta Physiologica. – 2013. - №208. – P.172–179.
11. Jansson E.A. A mammalian functional nitrate reductase that regulates nitrite and nitric oxide homeostasis / E.A. Jansson, L. Huang, R. Malkey et al. // Nat. Chem. Biol. – 2008. - №4. – P.411–417.
12. Jin L. Active secretion and protective effect of salivary nitrate against stress in human volunteers and rats / L. Jin, L.Qin, D. Xia [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2013. - №57. – P.61-67.
13. Lundberg J.O. Inorganic nitrate is a possible source for systemic generation of nitric oxide / J.O.Lundberg, M. Govoni // Free Radic. Biol. Med. – 2004. - №37. – P.395–400.
14. Lundberg J.O. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. / J.O. Lundberg, E. Weitzberg, M.T. Gladwin // Nat. Rev. Drug Discovery. – 2008. - № 7. – R.156–167.
15. Pernow J. Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal / J. Pernow, C. Jung // Cardiovas. Res. – 2013. - № 98. – P.334–343.
16. Sikka G. Contribution of arginase activation to vascular dysfunction in cigarette smoking / G. Sikka, D. Pandey, A. K. Bhuniya [et al.] // Atherosclerosis. – 2013. - № 231. – P. 91–94.
17. Shin W.S. Increased arginase II activity contributes to endothelial dysfunction through endothelial nitric oxide synthase uncoupling in aged mice / W. S. Shin, D. E. Berkowitz, S.W. Ryoo // Experimental & Molecular Medicine. – 2013. - №44. – P.594–602.

Реферат

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АРГИНАЗНОГО И NO-СИНТАЗНОГО ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА L-АРГИНИНА В КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ СОЧЕТАННОГО ИЗЛИШНЕГО ПОСТУПЛЕНИЯ НИТРАТА И ФТОРИДА НАТРИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СУСПЕНЗИИ НАНОДИСПЕРСТНОГО КРЕМНЕЗЕМА

Акимов О.Е., Ковалёва И.А., Костенко В.А.

Ключевые слова: нитрат натрия, фторид натрия, L-аргинин, NO-синтаза, аргиназа, нанодисперстный кремнезем.

Исследовано функционирование аргиназного и NO-синтазного пути метаболизма L-аргинина в условиях сочетанного излишнего поступления нитрата и фторида натрия и использования суспензии нанодисперстного кремнезема и отдельного поступления нитрата и фторида натрия в течении 30 дней. Установлено, что излишнее поступление фторида натрия в течении 30 суток повышает общую активность NO-синтазного пути метаболизма L-аргинина, но снижает общую активность аргиназного пути. Излишнее поступление нитрата натрия снижает активность аргиназного пути. Сочетанное поступление нитрата и фторида натрия снижает общую активность NO-синтазного пути метаболизма L-аргинина. Использование суспензии нанодисперстного кремнезема увеличивает общую активность NO-синтаз, но снижает активность аргиназ.

Summary

FUNCTIONING OF ARGINASE AND NO-SYNTHASE DEPENDENT METABOLISM OF L-ARGININE UNDER EXCESSIVE SODIUM NITRATE AND FLUORIDE INTAKE AND APPLICATION OF NANOSIZED SILICA SOLUTION

Akimov O. ., Kovaliova I.O., Kostenko V.O.

Key words: sodium nitrate, sodium fluoride, L-arginine, arginase, NO-synthase, nanosized silica

The article describes changes in functioning of arginase dependent and NO-synthase (NOS) dependent pathways of L-arginine metabolism under conditions of chronic excessive intake of sodium nitrate and sodium fluoride, chronic excessive intake of sodium nitrate and sodium fluoride and usage of nanosized silica solution, separate intake of sodium nitrate and sodium fluoride for 30 days. It was estimated that Excessive intake of sodium fluoride increases the general activity of NOS dependent pathway and decreases activity of arginase dependent pathway. Excessive intake of sodium nitrate also decreases arginase dependent pathway. Combined excessive intake of sodium nitrate and sodium fluoride decreases general activity of NOS dependent pathway. The application of nanosized silica solution during the course of chronic excessive intake of both sodium nitrate and fluoride increases general NOS activity and decreases general arginase activity.

УДК 340.624.6:616.24-018:577.175.823/.824

Артеменко О.І.

ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ ВМІСТУ ВІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ БІОГЕННИХ АМІНІВ (ГІСТАМІНУ ТА СЕРОТОНІНУ) В ЛЕГЕНЕВІЙ ТКАНИНІ ЛЮДИНИ

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця

Отримані в ході дослідження результати показали, що існує статистично достовірна різниця між вмістом вільних фракцій біогенних амінів гістаміну та серотоніну в різних відділах легенів. В той же час, в симетричних ділянках легень їх вміст майже однаковий. Якщо вміст біогенних амінів у фрагментах з верхівок легень умовно визначити за вихідний 100%, то рівень гістаміну в фрагментах з середніх та нижніх долей є вищим на 18,88 та 5,22% відповідно. Вміст вільного серотоніну в аналогічних фрагментах середніх та нижніх долей також є вищим на 10,43 та 4,21 %. Таким чином, вміст вільних фракцій гістаміну та серотоніну в ділянках різних долей легень має суттєві коливання. В той же час, в симетричних ділянках правої та лівої легені коливання вмісту біогенних амінів за коефіцієнтом варіації незначні (р >0,05). Отже, для дослідження кількісного вмісту біогенних амінів в легеневій тканині доцільно вилучати її зразки з центральної частини легені.

Ключові слова: гістамін, серотонін, легеневі тканини, біогенні аміни.

Вступ

Біогенні аміни відіграють ключову роль в багатьох фізіологічних та патологічних процесах, що перебігають в організмі людини.

Численними науковими дослідженнями встановлено, що гістамін і серотонін являються тканинними гормонами, медіаторами нервової системи, стимуляторами та інгібіторами внутрішньоклітинних, тканинних та органних перетворювань. Реакції, що викликаються біогенними амінами, нерідко виходять за межі гомеостазу та обумовлюють розвиток патологічних порушень і ушкоджень як в окремих органах, так і в цілому організмі. [2,3,4,7]

Гістамін та серотонін – постійна складова майже всіх органів, тканин, рідких середовищ та виділень організму людини. Ділянками найбільшої їх концентрації являються шкіра, шлунково-кишковий тракт та легені, тобто тканини, що контактують з зовнішнім середовищем. Найбільшу кількість серотоніну в організмі людини та тварин виявлено в тканинах шлунково-кишкового тракту, в значних кількостях - в тучних клітинах шкіри, тканині легень, селезінці, нирках. Також серотонін в значних кількостях виявляють в нервовій тканині.

В тканинах біогенні аміни представлені в трьох фракціях: вільній, яка екстрагується фізіологічним розчином, кислотно-екстрагованій та зв'язаній з тканинами, яка може бути отримана тільки після гідролізу тканини. Встановлено, що фізіологічна активність біогенних амінів пов'язана саме з їх вільною фракцією. Достеменно відомо, що вміст біогенних амінів (гістаміну та серотоніну) в межах одного органу, наприклад, в шкірі та головному мозку, непостійний та має мозаїчний характер розподілу. [1,5]

Легені людини, окрім дихальної функції, також виконують функцію підтримання гомеостазу цілої низки біологічно активних речовин (БАР), що циркулюють в крові. Причому, вони здійснюють контроль за рівнем ендогенних БАР. Легені активніше, ніж печінка, метаболізують серотонін та простагландіни, в меншій мірі – норадреналін, і практично не інактивують адреналін, дофамін, ДОФА, гістамін. Значну роль в метаболізмі БАР легенями відіграє транспортно-поглинальний механізм, необхідний для того, щоб біологічна субстанція досягла інактивуючих ферментів, розміщених внутрішньоклітинно. При цьому, окремі речовини можуть тимчасово депонуватися, а потім інактивуватися ферментами. Зокрема, в легенях так інактивуються норадреналін та серотонін. [6]