

ВПЛИВ ГЛУТАМАТУ НАТРІЮ НА БАЗАЛЬНУ ШЛУНКОВУ СЕКРЕЦІЮ КИСЛОТИ У ЩУРІВ

Т.М. Фалалєєва, Т.В. Берегова, Ю.О. Савченко
Київський національний університет
імені Тараса Шевченка

Вступ

На сьогодні добре відомо, що глутамат є головним збудливим нейротрансмітером в центральній нервовій системі (ЦНС) ссавців [22], який реалізує свою дію через метаботропні (mGluR1-mGluR8) та іонотропні (НМДА-, кайнатний- і АМПА-підтипи) глутаматні рецептори (ГлуР) [9]. Нещодавно було з'ясовано, що L-глутамат також виконує роль хімічного трансмітера в ентеральній нервовій системі травного тракту [15].

Не можливо не взяти до уваги той факт, що глутамат натрію Е 621 (натрієва сіль глутамінової амінокислоти) є найвідомішим посилювачем смаку та широко використовується в багатьох харчових виробництвах як харчова добавка, що застосовується для збереження поживних властивостей харчових продуктів, надання харчовим продуктам кращого смаку, полегшення технологічної обробки продовольчої сировини, здешевлення та скорочення технологічного процесу [17]. Так як глутамат натрію використовується в більшості сучасних харчових технологій як харчова добавка і кількість його вживання практично неконтрольований процес, це обумовлює більш детальне вивчення впливу даної харчової добавки на організм людини, перш за все на секреторну функцію шлунка, так як шлунок є найбільш уразливим відділом травного тракту, в який попадає їжа багата на глутамат натрію та глутамінову кислоту.

Не дивлячись на підвищений інтерес до глутамату натрію в останнє десятиріччя, питання про вплив його на шлункову секрецію кислоти (ШСК) на даний час вивчене недостатньо, а існуючі дані мають протиречивий характер. Так, одні автори вважають, що центральне введення глутамату посилює базальну

шлункову секрецію соляної кислоти [13]. За даними інших - гальмує ШСК [11]. Разом з тим, є також дані про те, що введення в ЦНС глутамату не впливає на ШСК [16].

Що стосується системного введення глутамату у 1990-х роках, вперше було досліджено, що при пероральному та внутрішньовенному введеннях глутамат натрію в дозі 100 мг/кг викликав сильно виражений потенціуючий ефект, який проявлявся в значному посиленні і пролонгуванні ШСК, стимульованої пентагастрином або м'ясом у собак [20]. Ці дані послугували основою для використання мононатрійглутамату у комплексній терапії гіпосекреторних станів [4].

Пізніше в дослідях на щурах в умовах *in vivo* та *in vitro* було показано, що L-глутамат при внутрішньовенному введенні не впливав на базальну та пентагастринову ШСК, проте гальмував окситреморінову та гістамінову секрецію [18, 19].

З чим пов'язана різниця в ефектах глутамату натрію на ШСК у собак та у щурів нам не зрозуміло. Можна думати, що ми маємо справу з видоспецифічністю в ефектах глутамату. Хоча не можна не врахувати різний діапазон використаних доз. Як правило, щурам вводять значно більші дози препаратів, ніж людям. Так людям та собакам вводять наркоз тіопентал натрію в дозі 25-35 мг/кг [6], а щурам 70-80 мг/кг [21].

Зв'язок роботи з науковими планами, темами. Робота виконана в рамках науково-дослідної теми "Дослідження механізмів функціонування органів травного тракту та розробка методів їх корекції" (№ державної реєстрації 0104U009878) Київського національного університету імені Тараса Шевченка як складової комплексної державної наукової програми "Здоров'я людини".

Метою даної роботи було з'ясування впливу різних доз глутамату натрію на базальну секрецію соляної кислоти шлунком щурів.

Матеріали та методи досліджень

Дослідження проведені в умовах гострого експерименту на білих нелінійних щурах-самцях (n=77) масою 160-220 г. з дотриманням нормативів Європейської конвенції 1997 року про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальним етичним принципам експериментів на тваринах, ухвалених Першим націо-

нальним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року) [5]. Тварин утримували в умовах акредитованого віварію. Прилади, що використовувалися для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

Вивчали вплив одноразового системного (внутрішньоочеревинно (в/о)) введення глутамату натрію в дозах 15, 30, 60, 120, 240, 480, 960, 1920 мг/кг на ШСК методом перфузії ізольованого шлунку за Гхошем та Шільдом [12]. Щурів наркотизували уретаном (1,1 г/кг, в/о; Sigma, USA). У зібраних 10-ти хвилинних пробах електротитриметрично визначали загальну кислотність перфузату за допомогою іономіра ЭВ-74 з використанням 0,01 N розчину гідроксиду натрію (NaOH). Кількість NaOH, що йшла на титрування перфузату в 10-ти хвилинній пробі, дорівнювала дебіту соляної кислоти, що виділялася в шлунку за даний період часу. Після цього обчислювали дебіт кислоти, що виділився впродовж досліду (120 хвилин) у мкмоль.

Для вивчення ролі периферичних глутаматних рецепторів нами були використані щури з білатеральною стовбуровою ваготомією на цервікальному рівні, у яких усунені впливи з ЦНС на парієтальні клітини. По завершенню дослідів щурів умертвляли за допомогою летальної дози уретану (3 г/кг, в/о).

У зв'язку з невеликим об'ємом вибірки, для перевірки розподілу на нормальність було застосовано W тест Шапіро-Вілка. Імовірність похибки першого роду $\alpha > 0,05$. Оскільки наші дані виявилися нормально розподілені ми розраховували середнє значення (M), похибку середнього (m). Порівняння вибірок проводилося за допомогою t-критерію Стюдента. Для наших даних ми приймали рівень значущості $p < 0,05$ [2].

Отримані результати та їх обговорення

У щурів з інтактною нервовою системою дебіт кислоти за 120 хв спостереження базальної ШСК складав $24,4 \pm 2,97$ мкмоль/120 хв ($n=7$). Більшість вчених стверджують, що тривалі споживання харчової добавки глутамату натрію в дозі 1 г/день не справляє шкідливого впливу на організм людини [10]. Тому наші дослідження з впливу глутамату натрію на базальну ШСК у щурів ми вирішили розпочати з дози 15 мг/кг (відповідає 1 г/день на середньостатистичну людину). Вста-

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

новлено, що глутамат натрію в даній дозі не впливав на базальну ШСК у щурів. Збільшення дози у два (30 мг/кг), три (60 мг/кг) та чотири рази (120 мг/кг), також не справляло статистично значущих змін секреції соляної кислоти (рис.1).

Збільшення дози глутамату натрію до 240 мг/кг призвело до збільшення базальної ШСК на 179% ($p < 0,001$) у порівнянні з контролем, проте подальше збільшення доз глутамату натрію до 480 та 960 мг/кг не впливало на базальну секрецію кислоти шлунком щурів. А збільшення дози глутамату натрію до 1920 мг/кг викликало навіть зменшення базальної ШСК на 60% ($p < 0,001$) у порівнянні з контролем (рис.1).

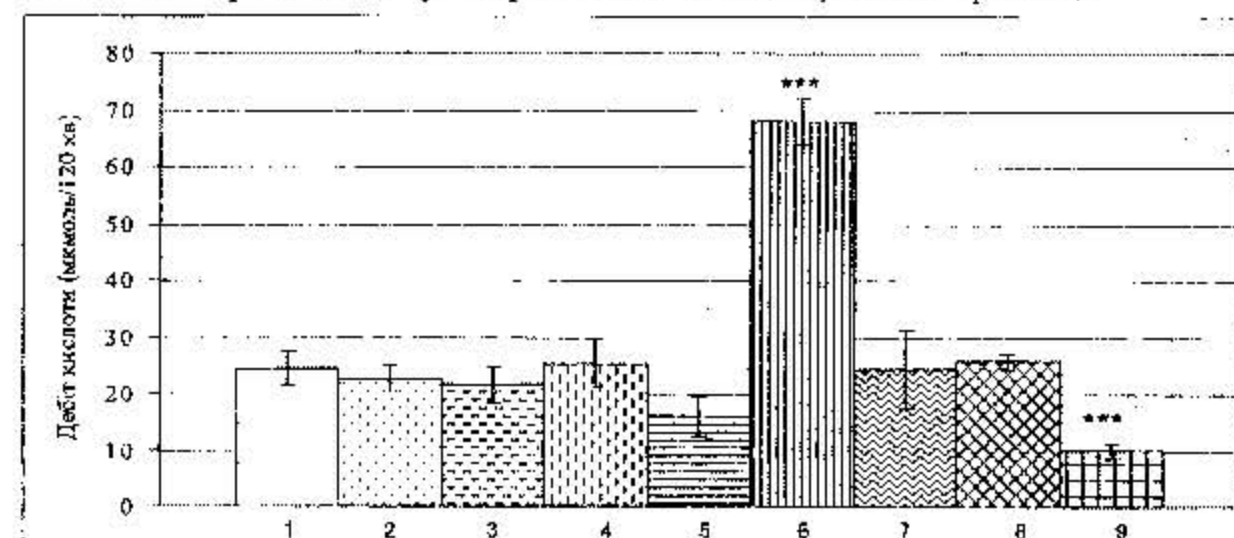


Рис. 1. Вплив глутамату натрію (ГН) на базальну шлункову секрецію кислоти у щурів (M+m): *** - $p < 0,001$ у порівнянні з контролем: 1 - контроль; 2 - ГН (15 мг/кг, в/о); 3 - ГН (30 мг/кг, в/о); 4 - ГН (60 мг/кг, в/о); 5 - ГН (120 мг/кг, в/о); 6 - ГН (240 мг/кг, в/о); 7 - ГН (480 мг/кг, в/о); 8 - ГН (960 мг/кг, в/о); 9 - ГН (1920 мг/кг, в/о).

Отже, доза 1920 мг/кг (відповідає 134 г/ середньостатистичну людину) є надмірно великою по відношенню до секреторного апарату шлунку і як наслідок, ми спостерігали падіння базальної ШСК на 60% ($p < 0,001$). Для пояснення цих даних необхідно навести дані літератури про те, що L-глутамат, окрім його ролі синаптичного медіатора, викликає довготривалі зміни збудливості нейронів, структури і функцій синапсів, визначає життєздатність нейронів [1]. Відкриття іонного каналу ГлурP приводить до збільшення концентрації внутрішньоклітинного кальцію, саме з кальцієм зв'язують збільшення нейрональної активності, опосередковане ГлурP. При гіперактивації ГлурP відбу-

Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії

вається інтенсивний потік іонів кальцію в клітину. Підвищений вміст вільного кальцію може викликати утворення реактивних форм кисню, що веде до руйнування та загибелі нейронів. Гіперактивацію ще називають "токсична збудливість" [9]. Також, відомо, що гіперпродукція глутамату створює умови для гіперпродукції оксиду азоту [3], який в свою чергу гальмує ШСК [14].

Таким чином, у щурів з інтактною нервовою системою в наших експериментах виявилися лише одна доза глутамату натрію - 240 мг/кг (відповідає 16,8 г/середньостатистичну людину), яка збільшує рівень базальної ШСК. Відомо [22], що при системному введенні глутамат натрію добре проходить через гематоенцефалічний бар'єр і збуджує як центральні так і периферичні Глур. Для усунення впливу центральних Глур на ШСК наступна серія досліджень була виконана на щурах зі стовбуровою ваготомією. Двобічна стовбурова ваготомія повністю усувала посилюючий ефект глутамату натрію в дозі 240 мг/кг на базальну ШСК у щурів (рис. 2). Ці результати свідчать про те, що периферичні Глур не беруть участь у стимулюючому впливі глутамату натрію на базальну ШСК.

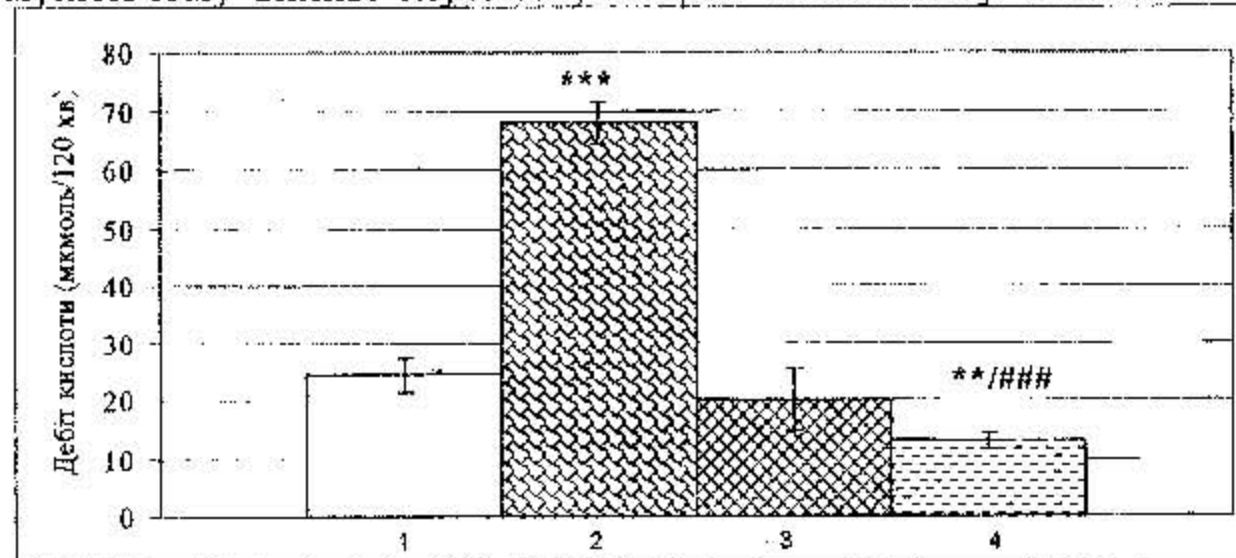


Рис. 2. Вплив глутамату натрію (ГН) на базальну шлункову секрецію кислоти у ваготомованих щурів (M+m): ** - $p < 0,01$ *** - $p < 0,001$ у порівнянні з контролем; ### - $p < 0,001$ у порівнянні з введенням ГН щурам з інтактною нервовою системою (ІНС); 1 - контроль (ІНС); 2 - ІНС+ГН (240 мг/кг, в/о); 3 - ваготомія; 4 - ваготомія+ГН (240 мг/кг, в/о).

В результаті проведених досліджень нами вперше встановлена доза глутамату натрію (240 мг/кг, відповідає 16,8 г/

середньостатистичну людину), що стимулює базальну ШСК у щурів, так як в роботах багатьох авторів показано [7, 8, 18, 19], що глутамат натрію при разовому системному введенні не впливає на базальну секрецію соляної кислоти у щурів. Виникає питання чому глутамат натрію лише в одній дозі викликає стимуляцію ШСК у щурів? Як зазначено у вступі глутамат реалізує свій вплив на організм через різні підтипи Глур, які як відомо, справляють різнонаправлений вплив на ШСК - як стимуляцію, так і гальмування [7, 8]. Тому ми припускаємо, що при системному введенні глутамата натрію можливо відбувається нашарування стимулюючих та гальмівних впливів на ШСК. Також, відповідь секреторного апарату залежить від дози введеного препарату. Очевидно, доза 240 мг/кг викликала розбалансування сумарної стимулюючих та гальмівних ефектів.

Також встановлено, що глутамат натрію при збудженні центральних Глур викликає посилення спонтанного виділення кислоти шлунком щурів, так як ваготомія усувала стимулюючий ефект глутамату на секреторну активність шлунка.

Висновки

1. У щурів з інтактною нервовою системою глутамат натрію в дозі 240 мг/кг збільшував рівень базальної шлункової секреції кислоти.
2. Стимулюючий вплив глутамату натрію на базальну секрецію соляної кислоти у щурів обумовлений активацією центральних глутаматних рецепторів.

Література

1. Беспалов А.Ю. Нейропсихофармакология антагонистов NMDA-рецепторов / А.Ю. Беспалов, Э.Э. Звартау - Санкт-Петербург : Невский диалект, 2000. - 295 с.
2. Гланс С. Медико-биологическая статистика / С. Гланс. - Москва, Практика, 1999. - 459 с.
3. Исайкин А.И. Патогенетические аспекты терапии ишемического инсульта / А.И. Исайкин // Трудный пациент. - 2010. - № 4. - С. 13-18.
4. Кочетков А.М. Применение однозамещенного глутамата натрия в комплексной терапии больных атрофичес-

ким гастритом / А.М. Кочетков, Г.К. Шлыгин, Т.И. Лоранская // Вопросы питания. - 1992. - Т. 56, № 56. - С. 19-22.

5. Мальцев В.И., Этическая оценка методик проведения исследований / В.И. Мальцев, Д.Ю. Белоусов // Ежедневник Аптека. - 2001. - № 34. - С. 35.

6. Розширена проксимальна селективна ваготомія / А.І. Суходоля, Т.В. Берегова, М.М. Харченко [та ін.] // Клінічна хірургія. - 1999. - №7. - С. 45-46.

7. Фалалеева Т.М. Дослідження ролі глутаматних рецепторів NMDA-типу в регуляції базальної та стимульованої інсуліном шлункової секреції у щурів / Т.М. Фалалеева, Н.В. Дзюбенко, А.І. Суходоля, Т.В. Берегова // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. - 2004. - № 9. - С. 10-11.

8. Фалалеева Т.М. Роль центральних та периферичних іонотропних глутаматних рецепторів АМПА- та кайнатного-типу у регуляції шлункової секреції кислоти у щурів / Т.М. Фалалеева, Т.В. Берегова // Доповіді Національної академії наук України. - 2010. - № 7. - С. 155-157.

9. Dingledme R. The glutamate receptor ion channels / R. Dingledme, K. Borges, D. Bowie [e.a.] // Pharmacol. Rev. - 1999 - Vol. 51 - P. 7-61.

10. Freeman M. Reconsidering the effects of monosodium glutamate: a literature review / M. Freeman // J. Am. Acad. Nurse Pract. - 2006. - Vol. 18, № 10. - P. 482-486.

11. Interleukin 1 beta-induced inhibition of gastric acid secretion involves glutamate, NO and cGMP synthesis in the brain / E. Garcia-Zaragoza, C. Hernandez, M.D. Barrachiina [et al.] // Nuunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. - 2003. - Vol. 367. - P. 22-27.

12. Ghosh M.H., Shild H.O. Continuous recording of acid gastric secretion in the rat / M.H. Ghosh, H.O. Shild // Br. J. Pharmac. Chemother. - 1958. - Vol. 13. - P. 54 - 61.

13. Kaneko H. TRH in the dorsal motor nucleus of vagus is involved in gastric erosion induced by excitation of raphe

pallidus in rats / Kaneko H., Tache Y. // Brain Res. - 1995. - Vol. 699. - P. 97-102.

14. Kato S. Role of nitric oxide in regulation of gastric acid secretion in rats: effects of NO donors and NO synthase inhibitor / S. Kato, M. Kitamura, R.P. Korolkiewicz, K. Takeuchi // Br. J Pharmacol. - 1998. - Vol. 123. - № 5. - P. 839-846.

15. Liu M-T. Glutamatergic enteric neurons / M-T. Liu, J.D. Rothstein, M.D. Gershon // J. Neurosci. - 1997. - Vol. 17. - N 12. - P. 4764-4784.

16. Namiki T. Effects of GABA and L-glutamate on the gastric acid secretion and gastric defensive mechanisms in rat lateral hypothalamus / T. Namiki, M. Egawa, S. Tominaga // J. Auton. Nerv. Syst. - 1993. - Vol. 44. - P. 217-223.

17. Sano Ch. History of glutamate production / Ch. Sano // Am. J. Clin. Nutr. - 2009. - 90. - P. 728-732.

18. Tsai L.H. Effect of L-glutamic acid on acid secretion and immunohistochemical localization of glutamatergic neurons in the rat stomach / L.H. Tsai, W. Tsai, J.Y. Wu // J. Neurosci. Res. - 1994. - Vol. 38. - P. 188-195.

19. Tsai L.H. Effect of L-glutamic acid on acid secretion and mucosal blood flow in the rat stomach / L.H. Tsai, L.R. Huang, S.H. Chen, H.J. Liu, L.S. Chou // Chin J Physiol. - 1999. - Vol. 42. - N 3. - P. 181-187.

20. Vasilevskaia L. Effect of glutamate and combined with inosine monophosphate on gastric secretion. / L. Vasilevskaia, M. Rymshina, G. Shlygin // Vopr.Pitan. - 1993. - Vol. 3. - P. 29-33.

21. Vereshchak N.I. Restoration of locomotion in white rats after multiple lesioning of the motor cortex and heterotopic transplantation of cortex fragments / N.I. Vereshchak, D.N. Lenkov // Neuroscience and Behavioral Physiology. - 1998. - Vol. 28. - N. 6. - P. 706-709.

22. Watkins J.C., Jane D.E. The glutamate story / J.C. Watkins, D.E. Jane // Br. J. Pharmacol. - 2006. - Vol. 147. - P. 100-108.

Резюме

Фалалеева Т.М., Берегова Т.В., Савченко Ю.О. Вплив глютама-
ту натрію на базальну шлункову секрецію кислоти у щурів.

Дослідження проведені в умовах гострого експерименту на білих беспородних щурах самцях з інтактною нервовою системою та після двобічної ваготомії. Шлункову секрецію досліджували методом перфузії ізольованого шлунка за Гхошем та Шільдом. У щурів з інтактною нервовою системою глютамат натрію в дозі 240 мг/кг збільшував рівень базальної шлункової секреції кислоти. Також встановлено, що стимулюючий вплив глютама-
ту натрію на базальну шлункову секрецію кислоти у щурів обумовлений активацією центральних глютаматних рецепторів, так як ваготомія усувала стимулюючий ефект глютама-
ту на секреторну активність шлунка.

Ключові слова: шлункова секреція кислоти, глютамат натрію, глютаматні рецептори.

Резюме

Фалалеева Т.М., Береговая Т.В., Савченко Ю.А. Влияние глюта-
мата натрия на базальную желудочную секрецию кислоты у крыс.

Исследования проведены в условиях острого эксперимента на белых беспородных самцах крыс с интактной нервной системой и после двухсторонней ваготомии. Желудочную секрецию исследовали методом перфузии изолированного желудка по Гхошу и Шильду. У крыс с интактной нервной системой глютамат натрия в дозе 240 мг / кг увеличивал уровень базальной желудочной секреции кислоты. Также установлено, что стимулирующее влияние глютама-
та натрия на базальную желудочную секрецию кислоты у крыс обусловлен активацией центральных глютаматных рецепторов, так как ваготомия устраняла стимулирующий эффект глютама-
та на секреторную активность желудка.

Ключевые слова: желудочная секреция кислоты, глютамат натрия, глютаматные рецепторы.

Summary

Falalyeyeva T.M., Beregova T.V., Savchenko I.O. The influence of
monosodium glutamate on basal gastric acid secretion in rats.

Investigations were carrying out in acute experiment on white rats with intact nervous system and after bilateral vagotomy. Gastric acid secretion was studied by method of perfused stomach of anesthetized rats by Ghosh and Shild. In rats with intact nervous system monosodium glutamate in a dose 240 mg/kg increased the level of basal gastric acid secretion. Also found that the stimulating effect of monosodium glutamate on basal gastric acid secretion in rats is due to activation of central glutamate receptors, because vagotomy eliminated the stimulatory effect of glutamate on the secretory activity of the stomach.

Key words: gastric acid secretion, monosodium glutamate, glutamate receptors.

Рецензенти: д.мед.н., проф. В.Д.Лук'янчук
д.біол.н., проф. С.М.Федченко

**ВПЛИВ РІЗНИХ ТЕРМІНІВ ВВЕДЕННЯ
ПОТЕНЦІЙНОГО ПРЕПАРАТУ ЦІЛЬОВОЇ ДІЇ
ПОХІДНОГО МАЛЕІМІДУ НА СТРУКТУРНО-
ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПІДШЛУНКОВОЇ
ЗАЛОЗИ ЩУРІВ**

І.В.Харчук

*Київський національний університет
імені Тараса Шевченка*

Вступ

Серед пухлин органів травлення рак підшлункової залози займає 5 місце по частоті захворювання і смертності [13] та відноситься до таких, що важко піддаються лікуванню [14]. Мовчазний характер перебігу захворювання зумовлює складність діагностування його на ранніх стадіях. Низька ефективність існуючих препаратів, їх висока токсичність та резистентність до них значної частини пацієнтів значно ускладнює ефективне лікування [15].

Новим напрямком пошуку ефективних протипухлинних засобів є дослідження малотоксичних цитостатиків цільової терапії. Препарати цільової терапії вибірково діють на ключові молекули сигнальних шляхів, що відповідають за передачу сигналу, ангиогенез, процеси апоптозу, контроль клітинного циклу та інше і знаходяться у зміненому стані в злоякісних клітинах [12]. Сьогодні вже доведена ефективність цих сполук у комплексній терапії багатьох видів злоякісних новоутворень завдяки поєднанню цитостатичних властивостей і вибіркової дії. Для потенційних протипухлинних препаратів важливим показником їх селективності є ураження лише злоякісних клітин та незначний вплив на нормальні клітини і тканини, особливо з високим ступенем проліферації (слизова оболонка кишечника, кровотворні органи, сперматогенний епітелій).

Синтезоване за допомогою *in silico* дизайну похідне малеїмід-
ду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон
(MI-1) має властивості потенційних препаратів цільової дії,