

**ЗАЛЕЖНІСТЬ МІОЕЛЕКТРИЧНОЇ АКТИВНОСТІ
ОРГАНІВ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЇ ЗОНИ ВІД
АКТИВНОСТІ НІТРОЕРГІЧНОЇ РЕГУЛЯТОРНОЇ
СИСТЕМИ**

О.О. Галінський, О.В. Севериновська, А.І. Руденко

Дніпропетровський національний університет

імені Олеся Гончара

ДУ "Інститут гастроентерології НАМН України"

(Дніпропетровськ)

Вступ

Останнім часом помітне лавиноподібне зростання кількості наукових публікацій про роль оксид азоту (NO) - одного з найважливіших біологічних медіаторів, який залиучений у безліч фізіологічних і патофізіологічних процесів. Він являє собою унікальний за своєю природою та механізмами дії вторинний месенджер у більшості клітин організму. Зокрема, оксид азоту бере участь в реалізації багатьох важливих фізіологічних функцій, таких як вазоділатація, нейротрансмісія, зниження агрегації тромбоцитів, реакція імунної системи, регуляція тонусу гладеньких м'язів, стану пам'яті та ін., а також деяких патологічних процесів [3; 4].

Доведено, що молекула NO володіє широким спектром біологічної дії, яку умовно можна поділити на регуляторну, захисну та пошкоджуючу [11]. З одного боку, цей універсальний ендогенний регулятор має антиоксидантні властивості, регулює моторику травного тракту, шлункову секрецію, мікроциркуляцію, стимулює секрецію слизу і володіє цитопротективною дією [7; 9; 10; 12]. З іншого боку, оксиду азоту і його метаболітам належить значна роль у патогенезі різних захворювань, у тому числі і шлунково-кишкового тракту. Подібне поєднання деструктивних і захисних ефектів дозволяє вважати цю молекулу однією з центральних фігур утримання балансу фізіологічних і патофізіологічних процесів в багатьох тканинах [1; 8; 12; 13].

Загальновідомо, що за механізмом своєї дії оксид азоту є ендогенною "релаксуючою" речовиною. У функціонуванні гладенько-м'язового комплексу (ГМК) NO відіграє ключову роль у зниженні механічної напруги і величини скоротливої активності та у пригніченні спонтанної активності, що модулює відповідь ГМК на дію фізіологічно- і біологічно активних речовин [2; 4; 13]. Але залишається відкритим питання щодо впливу NO на міоелектричну активність шлунка та дванадцятипалої кишki (ДПК), не як на сукупність ГМК, а як на функціональну систему. А також стосовно ефектів дефіциту та надлишку монооксиду нітрогену на стан та функціонування органів гастро-дуоденальної зони [2; 10].

Метою даної роботи було вивчення особливостей міоелектричної активності гастродуоденальної зони органів травлення за різної активності нітроергічної ланки регуляторної системи.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на 70 статевозрілих лабораторних щурах-самцях масою 250-300 г, яких утримували на стандартному харчовому раціоні віварю. Всіх тварин випадковим чином розділили на три групи: I група - інтактна, якій вводили плацебо ($n=10$), II група тих тварин, яким проводили блокування NO-сінтази ($n=30$), III група тварин, яким вводили донатор NO ($n=30$). У якості блокатора NO-сінтази тваринам вводили внутрішньочеревно 1% суспензію NG-нітро-L-аргинінметилу (Sigma-Aldrich) у дозі 40мг/кг. Донором NO виступав 1% розчин натрію нітропрусиду (Sigma-Aldrich) в дозі 1,5 мг/кг. Розчини готувались безпосередньо перед експериментом (згідно з рекомендаціями виробника препаратів) і вводились піддослідним тваринам в один і той же час о 9 годині ранку упродовж 6 та 12 діб. Одноразове введення як L-NNA так і натрію нітропрусиду проводили після тридцятихвилинного залипу електрогастроміограмами та електродуоденоміограмами, після чого продовжували реєстрацію ще 120 хвилин. За 16-20 годин перед дослідженням тварин піддавали харчовій депривації при вільному доступі до води. Міоелектричну активність гладеньких м'язів шлунка та дванадцятипалої кишki здійснювали за допомогою біполлярних платинових голкових електродів [6]. Електрод фіксували в астральному відділі шлунка та на ДПК

на відстані 5-7 мм в обох напрямках від пілоричного сфинктера. Реєстрацію здійснювали за допомогою поліграфа RM-86 Nihon Kohden. Аналізували міоелектричну активність (MEA) шлунку а і ДПК за такими показниками: амплітуда першеної хвилі, період, тривалість фаз основного електричного ритму (ОЕР) та моторний індекс (площа обмежена проінтегрованою електрогастроміограмою (ЕГМГ) та електродуоденоміограмою (ЕДМГ). Цей показник відображає загальну картину моторної активності шлунка та ДПК).

Дослідження проводили дотримуючись нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997р., Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі [5].

Усі вихідні дані, отримані при виконанні роботи, з метою оптимізації математичної обробки вводили у базу даних, побудовану за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel 2010. Отриманий числовий матеріал обробляли за допомогою стандартних методів математичної статистики з визначенням середніх величин, їх стандартних помилок та інтервалів вірогідності за т-критерієм Стьюдента. Відмінності, отримані за методом парних порівнянь, вважали вірогідними при $p<0,05$. Математичні розрахунки та побудову графіків здійснювали з використанням пакетів програм Microsoft Excel 2010 та OriginLab OriginPro.v8.0.

Отримані результати та їх обговорення

В контрольних дослідах встановлено, що в інтактному стані МЕА ГДЗ мала фазний характер, при цьому фаза спокою становила 50-80 хв (І фаза), фаза нерегулярної спайкової активності - 40-50 хв (ІІ фаза), фаза регулярної спайкової активності - 5-9 хв (ІІІ фаза).

Після одноразового введення L-NNA через 5-7 хв в складі МЕА спостерігали збільшення амплітуди коливань як шлунка так і ДПК, протягом наступних 15-20 хвилин відмічали збільшення кількості та амплітуди поодиноких пікових потенціалів, порівняно до контрою. Починаючи з 35-45-ої хвилини в більшості експериментів спостерігали МЕА шлунку, яка нага-

дувала перехід між II-III фазами і зберігалася до кінця реєстрації. При цьому картина електричних коливань, яка була найбільш подібною до III фази міоелектричної активності, спостерігалася у шлунку через 80-100 хв. та тривала не більше 10-15 хв. У даних умовах (при блокаді нітрергічних механізмів) спостерігали наступну картину міоелектричної активності ДПК: через 15-17 хвилин після введення L-NNA відмічали збільшення амплітуди коливань за рахунок підвищення амплітуди першого висхідного коліна повільної хвилі, через 20 хвилин спостерігали появу III фази міоелектричної активності ДПК. Важливим є те, що з 50-60-ої хвилини після введення L-NNA регулярна пікова активність ДПК (у вигляді спайк-потенціалів, які виникають на кожній повільній хвилі) виявлялась у вигляді відрізків по 60-120 с, які чергувались з відрізками з нерегулярною піковою активністю, а інколи з повною відсутністю спайк-потенціалів, також відзначалось нестійке накладання на патерн міоелектричної активності дванадцятипалої кишки більш повільних хвиль "шлункового походження".

Слід зазначити що на другій годині дослідження період ОЕР шлунка зменшився і становив $10,85 \pm 0,26$ с, а період ОЕР дванадцятипалої кишки був подібний до контролю, тоді як амплітуда цього ритму шлунка не змінювалася, а амплітуда коливань міоелектричної активності дванадцятипалої кишки вірогідно зросла до $24,12 \pm 1,64$ мкВ ($p < 0,05$).

Аналізуючи попередні дані було вирішено для кількісного порівняння МЕА ГДЗ використовувати показник моторного індексу (MI) - площа під кривою проінтегрованої ЕГМГ та ЕДМГ, так як показники амплітудно-частотної характеристики МЕА цих органів змінені тривалим патологічними хвиллями, що є наслідком порушення функціонування органів травлення, які викликані змінами в NO-єргічній системі. На рис. 1 надані значення моторного індексу шлунка та дванадцятипалої кишки до та після введення L-NNA упродовж 150 хвилин дослідження. При одноразовому блокуванні NO-сінтази моторний індекс активності шлунка упродовж 90 хвилин в середньому збільшився на 16,87%, а дванадцятипалої кишки упродовж 60 секунд - на 38,88% ($p < 0,05$).

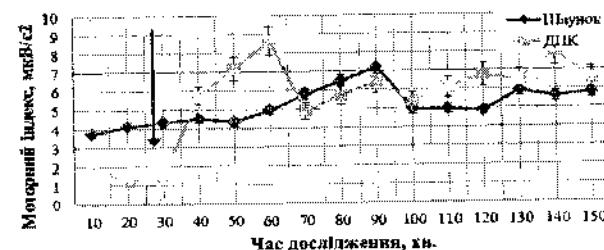


Рис.1. Динаміка зміни показників моторного індексу шлунка та ДПК після одноразового введення L-NNA (момент введення відмічений стрілкою).

Після шестиденного введення блокатору NOS картина міоелектричної активності шлунка, була найбільш подібною до переходу між II та III фазами, переважала пізня друга та рання третя фази, I фаза не визначалася протягом запису. При тривалому порушенні роботи NO-єргічної ланки значення моторного індексу гастро-дуоденальної зони суттєво відрізнялися від значень контрольних тварин і залежали від тривалості блокування NO-сінтази. На шосту добу дефіциту NO значення моторного індексу обох відділів шлунково-кишкового тракту збільшилися в 1,5 рази ($p < 0,05$). Фази МЕА можливо було ідентифікувати тільки на основі моторного індексу. Відбувалося нав'язування ритму дванадцятипалої кишки шлунку, що супроводжувалось дуодено-гаstralльним рефлюксом. Отримані дані вказують на збільшення тривалості активних фаз після тривалого блокування NO-сінтази. При пролонгованому введенні L-NNA спостерігалася тенденція до збільшення тривалості II-III фази та зникнення першої фази ОЕР шлунка та ДПК.

На дванадцяту добу дефіциту NO, відмічалось зниження моторного індексу шлунка на 27% ($p < 0,05$), ДПК - на 59% ($p < 0,05$). При візуальному аналізі слизової оболонки шлунку встановлено наявність множинних ерозій та виразок, які виникали в результаті ушкоджуючої дії дуодено-гаstralльного рефлюксу. Наслідком довготривалого дефіциту оксиду азоту було суттєве зниження активності МЕА ГДЗ з декомпенсаційними проявами.

Наступною серією експериментів - було моделювання надлишку оксиду азоту. Через 10-20 с після введення донатора NO

(натрію нітропрусиду) відмічали зниження міоелектричної активності шлунка та ДПК упродовж 10-ти хвилинного запису. При цьому спостерігали парадоксальну реакцію - на фоні зниження МЕА шлунку зростала активність ДПК. Амплітуда коливань ОЕР шлунку становила $7,60 \pm 0,32$ мкВ ($p < 0,05$). В кінці запису відмічалася тенденція до відновлення амплітуди ОЕР шлунку. Період ОЕР шлунка становив $10,85 \pm 0,34$ мкВ, і був подібний до контролю та результатів отриманих при введені L-NNA. Реакція дванадцятипалої кишki на введення нітропрусиду на тріо була наступною: збільшилась амплітуда коливань ОЕР в 2 рази ($p < 0,05$), при цьому період ОЕР не змінювався. Слід зазначити, що через 50 хвилин після одноразового введення донора оксиду азоту відбувалось зниження MI у тварин III-ої групи до рівня $2,97 \pm 0,29$ мкВ/с² (рис. 2.), тоді як активність ДПК за цим показником в середньому зросла на 78,83% ($p < 0,05$).

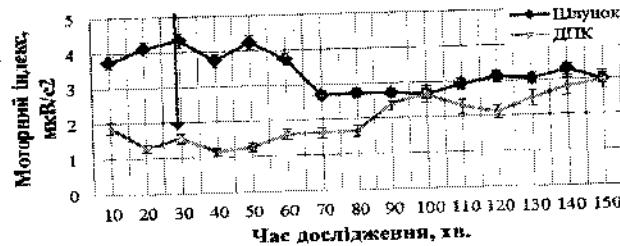


Рис. 2. Динаміка зміни показників моторного індексу шлунка та ДПК після одноразового введення натрію нітропрусиду (момент введення відмічений стрілкою).

Дослідження міоелектричної активності розглянутих відділів шлунково-кишкового тракту показало, що після шестиденного введення донатора NO тривалість фаз МЕА шлунка була подібною до контролю, це свідчить про включення адаптаційно-компенсаторних механізмів в шлунку на дію вищезазначеного агента. Ритм ОЕР ДПК мав чіткий характер, середня амплітуда коливань - $36,12 \pm 1,64$ мкВ ($p < 0,05$), але активність ДПК за MI зросла в два рази ($p < 0,05$).

Після 12-ти денного введення нітропрусиду натрію MI шлунка знизився на 42% ($p < 0,05$), порівняно до контролю, характер скорочень відповідав I фазі ОЕР, мало місце ретроградне

нав'язування ритму ДПК. Міоелектричний індекс ДПК збільшився майже в три рази, порівняно до контролю. Отже, міоелектрична активність ДПК мала прогнозований характер тільки у випадку з блокуванням NOS, а відповідь на збільшення рівня оксиду азоту носила атиповий характер (про що свідчить поступове збільшення її активності в залежності від тривалості введення нітропрусиду натрію).

Для перевірки дозозалежного ефекту нами проводились дослідження з іншими кількостями донору NO. Досить чіткою була картина міоелектричної активності ДПК після введення нітропрусиду натрію в концентрації 40 мг/кг: через 3-5 хвилин після його введення наступала повна релаксація шлунку зі збереженням чіткого ритму ДПК. Механізм подібної стимуляції МЕА ДПК не з'ясований, можливо він пов'язаний з ГМК та участю $\text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Cl}^-$ -котранспортера, подібно до описаного механізму у сечівнику (Ковалев И.В., 2002рік). Проте через 30 хвилин після введення вищезазначена доза донатора NO викликала порушення в роботі серцево-судинної системи і призводила до загибелі піддослідних тварин. При візуальному аналізі слизової оболонки шлунка після 12-ти добового введення нітропрусиду натрію відмічали наявність виразкових ушкоджень, які за характером дифузного розташування нагадували "стресорні пошкодження", на відміну від ерозивно-виразкових локалізованих в піlorичній частині, викликаних тривалим дуодено-гастральним рефлюксом після введення L-NNA.

Таким чином, отримані дані вказують на те, що шлунок є велими чутливим до зміни рівня NO, а його адаптаційно-компенсаторну реакцію можна співставити із загальноприйнятими уявленнями щодо впливу NO на гладенькі м'язи. Однак, різноспрямовані зміни рівня NO викликають зростання МЕА ДПК. Розкриття механізмів цього явища потребує подальшого дослідження метаболітів оксиду азоту, та внеску кожного типу NOS, розуміння взаємодії оксиду азоту з іншими регуляторними пептидами шлунково-кишкового тракту. Крім того, виявлення шляхів впливу NO-ергічної ланки на вказані механізми дозволить удосконалити методичні підходи до діагностики захворювань шлунково-кишкового тракту, пов'язаних зі змінами моторної функції та із супутніми розладами.

Висновки

1. Одноразове та шестиidenне блокування NO-сінтази викликає збільшення тривалості активних фаз ОЕР, незалежно від фази періодичної діяльності шлунка та ДПК. При дванадцятиденному дефіциті NO наступали декомпенсаційні прояви в МЕА шлунку та ДПК: вірогідне зниження MI на 27% та 59% відповідно.

2. Одноразове та шестиidenне введення донатора NO в дозі 1,5 мг/кг не викликало суттєвих змін у МЕА шлунку. Дванадцятиденне - призводило до зниження МЕА цього віділу. При одноразовому введенні нітропрусиду натрію у вищезазначеній дозі зафіксували збільшення МЕА ДПК на 78,83%, при шестиidenному - у 2 рази, а дванадцятиденне - втричі відносно контролю.

3. Тривалий дисбаланс нітроергічних механізмів регуляції зумовлює утворення множинних ерозій і гострих виразок округлої і овальної, рідше полігенальної форми, етіологія і локалізація яких залежить від активності нітроергічної ланки.

4. Довготривалий дисбаланс останньої призводить до порушення адаптаційно-компенсаторних механізмів МЕА шлунка та ДПК.

Автори статті вдячні доктору біологічних наук, професору, заслуженому діячу науки і техніки України Рибальченку Володимиру Корнійовичу за консультацію при виконанні даного дослідження та конструктивну критику під час написання статті, а також за доброзичливе та професійне ставлення до фізіологічної школи на Дніпропетровщині.

Література

1. Абасова А.С. Динамика содержания оксида азота в желудочном соке у больных с кислотозависимыми заболеваниями желудка и двенадцатиперстной кишки: Автoref. дис. ... канд. мед. наук / А.С.Абасов. - Махачкала, 2009. - 26 с.
2. Ивашикин В.Т. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока / В.Т.Ивашикин, О.М.Драпкина. - М.: Гэотар-Медиа, 2001. - 84 с.
3. Ковалев И.В. Роль оксида азота в регуляции электрической и сократительной активности гладких мышц / И.В. Ковалев, М.Б.Баскаков, Л.В.Капилевич [и др.] // Бюл. Сиб. Мед. - 2004. - Т.1, № 1. - Р. 7-26.

4. Механизмы NO-индукированного расслабления гладких мышц сосудов / А. Г Попов , А. А.Панов, Ю. Л. Бородин [и др.] // Сб. тез. международ. конф. "Актуальные вопросы кардиологии". - Томск, 2000. - С.252.

5. Покровский В. И. Биомедицинская этика / В. И.Покровский. - М., 1997. - 224 с.

6. Трушено О. С. Міоелектрична активність шлунка та дванадцятапалої кишки при ушкодженні гастродуоденальної ділянки / О. С. Трушено, О. Б. Мурзін, А. І. Руденко//Фізіологічний журнал. - 2006. - Т. 52, № 2. - С. 169.

7. Щербак В.А. Содержание метаболитов оксида азота в крови и желудочном соке у детей с хроническим дуоденитом / В.А.Щербак// Вопросы современной педиатрии. - 2007. - Т.6, № 6. - С. 54 - 57.

8. Gastroprotective and blood pressure lowering effects of dietary nitrate are abolished by antrumwash / J. Petersson, M. Carlstrom, O. Schreiber, M. Phillipson [et al.] // Biol. Med. - 2009. - Vol. 46, № 8. - P.1068-1075.

9. Konturek J. W. Endogenous nitric oxide in the regulation of gastric secretory and motor activity in humans / J.W.Konturek, H. Fischer, P. M. Gromotka//Aliment Pharmacol. Ther. - 1999. - Vol. 13. - P. 1683-1691.

10. Nitric oxide is involved in heat-induced HSP70 accumulation / L.Yu Malyshev, E.B. Manukhina, V.D.Mikoyan, L.N. Kubrina [et al.] // FEBS Lett. - 1995. - 370. - P.159-162.

11. Nitrite in saliva increases gastric mucosal blood flow and mucus thickness / H. Bjorne, J.Petersson, M. Phillipson, E. Weitzberg [et al.] // J. Clin. Invest. - 2004. - Vol. 113, №1. - P.106-114.

12. Ozmeric N. Advances in periorodontal disease markers / N.Ozmeric // Clin.Chim.Acta. - 2004. - Vol.343. - №1-2.-P.50.

13. Sivarao D.V. Pyloric sphincter dysfunction in nNOS-/ and W/Wo mutant mice: animal models of gastroparesis and duodenogastric reflux / D.V.Sivarao, H.Mashimo, R.K.Goyal// Gastroenterology. - 2008. - № 135 (4). - P. 1258?1266.

Резюме

Галінський О.О., Севериновська О.В., Руденко А.І. Залежність міоелектричної активності органів гастродуоденальної зони від активності нітроергічної регуляторної системи.

Встановлено, що короткочасне блокування NO-ергічної системи викликає зворотні зміни в міоелектричній активності шлунка та гастродуоденальної зони, а тривале - призводить до розбалансування МЕА цих відділів шлунково-кишкового тракту. Одноразове введення нітропруссиду натрію стимулює міоелектричну активність дванадцятипалої кишki. При тривалому введенні донаторів NO відбувається зниження МЕА шлунка. Довготривале порушення функціонування NO-ергічної ланки викликає ерозивно-виразкові пошкодження слизової оболонки шлунка.

Ключові слова: міоелектрична активність, шлунок, дванадцятипала кишка, оксид азота, L-NNA, нітропруссид натрію.

Résumé

Галинский А.А., Севериновская Е.В., Руденко А.И. Зависимость миоэлектрической активности органов гастродуоденальной зоны от активности нитроергической регуляторной системы.

Установлено что кратковременное блокирование NO-эргической системы вызывает обратимые изменения в миоэлектрической активности желудка и гастродуоденальной зоны, а длительное - приводит к розбалансированию миоэлектрической активности этих отделов желудочно-кишечного тракта. Одноразовое введение нитропруссида натрия стимулирует миоэлектрическую активность двенадцатиперстной кишки. При длительном введении донаторов NO происходит снижение миоэлектрической активности желудка. Длительное нарушение функционирования NO-эргического звена вызывает эрозивно-язвенные повреждения слизистой оболочки желудка.

Ключевые слова: миоэлектрическая активность, желудок, двенадцатиперстная кишка, оксид азота, L-NNA, нитропруссид натрия.

Summary

Galinskij A., Severynov's ka O., Rudenko A. Dependence of the myoelectrical activity of gastroduodenal organs from the activity of nitroergic regulatory system.

Established that the brief blocking of the NO-ergic system is causes convertible changes in myoelectric activity of stomach and gastro-duodenal zone. And as a result of protracted blocking is disbalance of the myoelectric activity of these gastrointestinal tract departments. Non-permanent introduction of sodium nitroprusside is stimulated of duodenum myoelectrical activity. There is a decrease of stomach myoelectric activity at the protracted introduction of donor NO. The protracted damage of function NO-ergic link is cause the erosive- ulcers damages of mucous membrane of stomach.

Key words: myoelectric activity, stomach, duodenum, nitric oxide, L-NNA, sodium nitroprusside.

Рецензент: д.біол.н., проф. С.М.Смірнов

УДК 615.322:54.02:581.43

**ХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ КОРЕНІВ
POLYGONUM ALPINUM ALL.**

В.П. Гапоненко, І.Г. Левашова, А.Г. Сербін
Національний фармацевтичний університет (Харків)

Вступ

Рід Гірчак (*Polygonum*) є одним з найпоширеніших. До роду *Polygonum* належить близько 300 видів однорічних, багаторічних трав'янистих рослин, напівкущів та ліан. В культурі близько 20 видів [2]. Деякі види гірчаків широко використовують в народній та науковій медицині як в'яжучі та кровоспинний засіб, при захворюваннях шлунку, печінки, в тому числі і при холецистіті. Настій кореневищ має тонізуючі та сечогінні властивості [3, 11]. До одного з перспективних представників роду гірчак, з метою створення лікарських препаратів, можна віднести і гірчак гірський, або альпійський (*Polygonum alpinum All.*), який поширений у Західній Європі, Європейській частині Росії, Західному та Східному Сибіру, Далекому Сході. В Україні цей вид зустрічається у Криму, Донецькій області, де росте на кам'янистих схилах [3]. Хоча гірчак гірський - ендемік Сибіру, але роботи з інтродукції гірчака гірського, проведені у Ботанічному саду АН України показали, що ця рослина в умовах Київської області легко культивується [12].

Гірчак гірський - багаторічна трав'яниста рослина від 20 до 100 см заввишки. Стебло пряме, розгалужене, голе. Розтруби косі, відкриті з боку листків. Листки ланцетні, знизу на жилках опушенні. Квітки білі, або світло-рожеві. Плід - горішок [10].

Корені та кореневище гірчака гірського - це джерело дубильних речовин, а інші групи біологічно активних сполук та надземна частина для медичної промисловості залишаються невикористаними [12]. За попередніми даними надземна частина гірчака гірського містить значну кількість різних класів біологічно активних сполук, таких як флавоноїди, органічні кислоти, вітаміни [11]. У зв'язку з цим гірчак гірський - це перспективна лікарська сировина для створення нових лікарських засобів.