

DOI: 10.26693/jmbs03.05.300

УДК 615.24:591.41/.434]:599.323.4

Пилипенко С. В., Коваль А. А.

## ВПЛИВ МУЛЬТИПРОБІОТИКІВ НА ВМІСТ НІТРИТ-ІОНІВ ТА АКТИВНІСТЬ СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ У СИРОВАТЦІ КРОВІ Й У СЛИЗОВИХ ОБОЛОНКАХ ШЛУНКУ ТА ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ ШЛУНКОВОГО СОКУ

Полтавський національний педагогічний університет ім. В. Г. Короленка, Україна

pilipenko\_s@ukr.net

Було встановлено, що при сумісному 28-ми денному введенні омепразолу з мультипробіотиком «Симбітер» або з мультипробіотиком «Апібакт» вміст нітрит-іонів в сироватці крові статистично достовірно не відрізнявся від контролю. В слизовій оболонці шлунка мультипробіотики «Симбітер» і «Апібакт» приблизно однаково зменшували вміст нітрит іонів на 24,9% ( $p < 0,05$ ) та 20,2% ( $p < 0,05$ ), відповідно, у порівнянні з групою щурів, яким упродовж 28-ми днів вводили один омепразол. При цьому вміст нітрит іонів у слизовій оболонці шлунка щурів залишався достатньо високим і був більшим у порівнянні з контролем на 83,9% ( $p < 0,05$ ) і 95,4% ( $p < 0,05$ ), відповідно. Аналогічна картина спостерігалася і в товстій кишці. Зростання синтезу  $\text{NO}_2^-$  є результатом збільшення активності NOS. Визначення активності NOS в слизових оболонках шлунка і товстої кишки щурів показало її зростання після 28 денного введення омепразолу на 146,8% ( $p < 0,05$ ) та 113% ( $p < 0,05$ ), відповідно. Після тривалого сумісного введення омепразолу і мультипробіотики «Симбітер» та омепразолу і мультипробіотики «Апібакт» активність NOS зменшувалась на 16,3% ( $p < 0,05$ ) і 14,4% ( $p < 0,05$ ), відповідно. Як і у випадку з вмістом нітрит іонів, активність NOS не відновлювалась до контрольних значень.

**Ключові слова:** гіпохлоргідрія, пробіотики, слизова оболонка шлунка, слизова оболонка товстої кишки, нітрит іони.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження проведені в рамках наукової теми Навчально-наукового центру «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка як складова частина комплексної теми «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій», № державної реєстрації 0111U004648.

**Вступ.** На сьогодні вже не викликає сумніву, що оксид азоту є одним із найважливіших медіаторів травної системи [5, 8, 25]. В світлі наших досліджень важливими є дані про те, що NO викликає розслаблення гладеньких м'язів стінки травного тракту [7]. У лінії мишей, нокаутованих за геном NOS, розвивається гастромегалія [5]. Морфологічні дослідження шлунка у цих тварин показали наявність контрактурних змін в гладеньких м'язах та гіпертрофії у пілоричному відділі. Зроблено висновок, що дефіцит NO сприяє розвитку пілоростенозу у людей. Пізніше це було підтверджено на людях із пілоростенозом, у яких було виявлено відсутність NOS у нейронах міжм'язового сплетіння [26].

**Мета роботи** - дослідити функціонування системи NO в організмі щурів за умов тривалої гіпоацидності шлункового соку та застосування пробіотиків.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження проведені на 40 білих нелінійних щурах-самцях з початковою вагою 160-180 г, яких утримували в акредитованому віварію Навчально-наукового центру «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)». Всі експерименти проведені відповідно до Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Усі тварини були розділені на 4 експериментальні групи. Перша група тварин слугувала контролем. Їм упродовж 28 днів вводили один раз на добу внутрішньоочеревинно (в/о) 0,2 мл та перорально (п/о) 0,5 мл води для ін'єкцій. Тваринам другої групи один раз на добу упродовж 28 днів вводили омепразол та п/о 0,5 мл води для ін'єкцій. Тваринам третьої групи один раз на добу упродовж 28 днів сумісно вводили омепразол та мультипробіотик «Симбітер® ацидофільний» концентрований

(Симбітер). Тваринам четвертої групи один раз на добу упродовж 28 днів сумісно вводили омепразол та мультипробіотик «Апібакт®» (Апібакт).

Омепразол (виробництва «Sigma-Aldrich» США) вводили в/о в дозі 14 мг/кг, розчинений в 0,2 мл води для ін'єкцій. Мультипробіотики Симбітер і Апібакт (виробництва НВК «О.Д. Пролісок», Україна) вводили сумісно з омепразолом п/о в дозі 140 мг/кг (1,4\*10<sup>10</sup> КУО/кг). Мультипробіотики розчиняли в 0,5 мл води для ін'єкцій.

Вміст нітрит-іонів визначали методом Гріса з модифікаціями за [9]. Активність синтази оксиду азоту (КФ 1.14.13.39) вимірювали за методом [14], який полягає у визначенні приросту продуктів аеробного окислення оксиду азоту.

Для кожної з вибірок перевіряли чи є нормальним розподіл досліджуваного показника, застосовуючи W тест Шапіро-Вілка. За цим критерієм було визначено, що якщо розподіл даних вибірок не відповідає розподілу Гауса, то для порівняння вибірок використовували непараметричний метод – ранговий критерій груп U-тест Мана-Вітні для порівняння двох незалежних вибірок та тест Вілкоксона – для залежних. У цьому випадку Отримані дані представлені у вигляді Median; (25%...75%) [4].

За нормального розподілу досліджуваного показника значимість різниці показників оцінювали за допомогою t-критерію Стюдента. Розраховували середнє значення (M) і стандартну похибку середнього (m). Статистично значущою вважали різницю при p<0,05 [2].

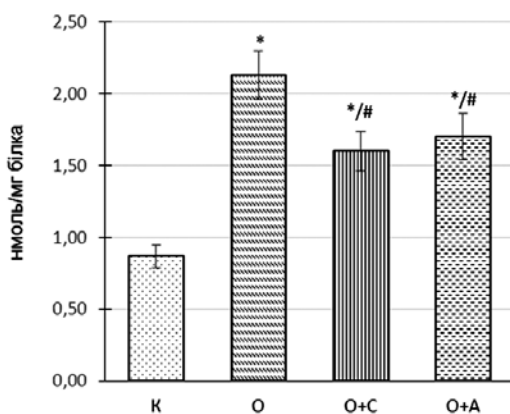


Рис. 1. Вміст нітрит іонів у слизовій оболонці шлунка щурів, (M±m)

**Примітки:** К – контрольна група (n=10); О – група щурів після 28-ми денного введення омепразолу (n=10); О+С – група щурів після 28-ми денного сумісного введення омепразолу та мультипробіотику «Симбітер» (n=10); О+А – група щурів після 28-ми денного сумісного введення омепразолу та мультипробіотику «Апібакт» (n=10); \* - p<0,05 у порівнянні з контролем; # - p<0,05 у порівнянні з групою щурів, яким вводили один омепразол.

**Результати досліджень та їх обговорення.** В контрольній групі щурів концентрація нітрит-іонів (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) в сироватці крові складала 4,64±0,42 нмоль/мг білка. Через день після останнього введення омепразолу концентрація NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в сироватці крові збільшувалась на 20% (p<0,05). Зростання концентрації NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в слизових оболонках шлунка та товстої кишки після 28-денного пригнічення секреції HCl в шлунку було значно виразнішим і складало 144% (p<0,05) (рис. 1) і 158% (p<0,05) (рис. 2), відповідно.

Отже найменшим було зростання концентрації NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в сироватці крові. Це можна пояснити тим, що NO, який синтезується під час запалення, виконує свої біологічні функції в тканинах, саме тих, де розвивається запальний процес. В нашому випадку це слизова оболонка травного тракту, в якій NO може вражати клітинні структури [19].

Зростання синтезу NO<sub>2</sub><sup>-</sup> є результатом збільшення активності NOS. Відомо, що бактеріальні продукти в шлунково-кишковому тракті стимулюють активність iNOS імунокомпетентних, епітеліальних та інших клітин [16]. Тому наші подальші дослідження були спрямовані на визначення активності NOS в слизових оболонках шлунка і товстої кишки після тривалого введення щурам омепразолу та після тривалого сумісного введення омепразолу і мультипробіотиків.

Дослідження активності NOS в слизових оболонках шлунка і товстої кишки показало її зростання на 146,8% (p<0,05) та 113% (p<0,05), відповідно

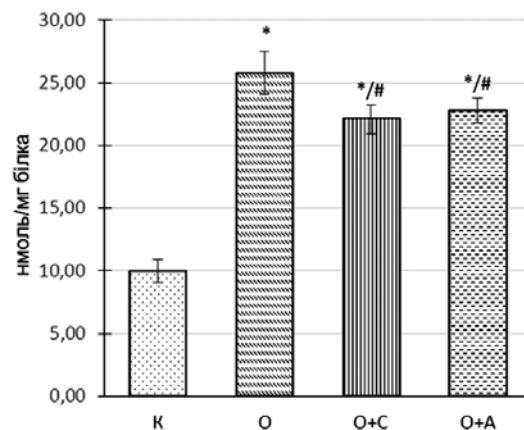


Рис. 2. Вміст нітрит іонів у слизовій оболонці товстої кишки щурів, (M±m)

**Примітки:** К – контрольна група (n=10); О – група щурів після 28-ми денного введення омепразолу (n=10); О+С – група щурів після 28-ми денного сумісного введення омепразолу та мультипробіотику «Симбітер» (n=10); О+А – група щурів після 28-ми денного сумісного введення омепразолу та мультипробіотику «Апібакт» (n=10); \* - p<0,05 у порівнянні з контролем; # - p<0,05 у порівнянні з групою щурів, яким вводили один омепразол.

(рис. 3, 4). Одержані дані (зростання активності NOS та вмісту  $\text{NO}_2$ ) на фоні запального процесу, доведеного морфологічними дослідженнями [3, 6], та дисбактеріозу в слизових оболонках тракту, викликаного 28-денним введенням омепразолу, дозволяють зробити висновок про активацію саме iNOS.

На відміну від конститутивних ізоформ NOS, iNOS не потребує підвищення концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  для ініціації її активності [1]. Індукція iNOS в імунних, ендотеліальних, гладком'язових, епітеліальних та інших клітинах може бути ініційована запальними цитокінами –  $\text{IFN}\gamma$ ,  $\text{TNF}\alpha$  або  $\text{IL-1}$  [17]. Показано, що  $\text{IFN}\gamma$  викликає експресію iNOS гена в кишковому епітелії [15]. Ензим, кодований iNOS, iNOS, каталізує утворення NO з L-аргініну [20]. Крім того, деякі бактерії здатні утворювати NO з нітроген-вмісних продуктів [13].

Власне, аналогічна картина спостерігалась в наших експериментах: на фоні дисбактеріозу та гіпергастринемії, індукованих 28-ми денним введенням омепразолу, було зареєстроване зростання в сироватці крові концентрації прозапальних цитокінів  $\text{IFN}\gamma$ ,  $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{IL-1}$  на 58,5% ( $p < 0,05$ ), 73,3% ( $p < 0,05$ ), 80,2% ( $p < 0,05$ ), відповідно. Це приводило до збільшення активності iNOS у слизових оболонках шлунку та товстої кишки і, як результат, зростання вмісту нітрит-іонів у сироватці крові і у слизових оболонках шлунку (рис. 3) та товстої кишки (рис. 4).

Зважаючи на те, що NO може пригнічувати секрецію  $\text{HCl}$  кислоти в шлунку [22] та стимулюва-

ти синтез гастрину [11], ми припустили, що надзвичайно виражена гіпергастринемія після 28-ми днів введення омепразолу є результатом двох складових: перша – це пряма дія омепразолу (блокада  $\text{H}^+/\text{K}^+/\text{ATP}$  фази, високий рН в шлунку, збудження рН-чутливого рецептора на гастринових клітинах, секреція гастрину) і друга – це опосередкована дія омепразолу на секрецію гастрину через збільшення продукції NO, викликаного дисбактеріозом, що розвивається при високих рН в шлунку.

NO не тільки бере участь в регуляції імунних реакцій та розвитку запалення [21], він залучений у регуляцію ряду фізіологічних функцій і патогенез багатьох захворювань [10], в тому числі і травного тракту [18]. Доведено, що оксид азоту гальмує скорочення гладеньких м'язів шлунка [12]. Гальмування оксидом азоту моторики шлунка супроводжується розслабленням нижнього стравохідного сфінктера [24], що на нашу думку сприятиме заселенню шлунка бактеріями рото-фарингеального походження.

Так як за умов дисбактеріозу в шлунку і товстій кишці, викликаному 28-ми денним введенням омепразолу, зростає продукція NO в сироватці крові і слизових оболонках шлунка та товстої кишки, а надмірне зростання концентрації NO в тканинах травного тракту є одним із факторів пригнічення моторики після тривалого введення омепразолу, для усунення дисбактеріозу ми запропонували використання мультипробіотиків, і подальші наші дослідження були направлені на визначення вмісту нітрит-іонів ( $\text{NO}_2$ ) у досліджуваних середовищах у щурів з тривалою гіпоацидністю шлункового соку,

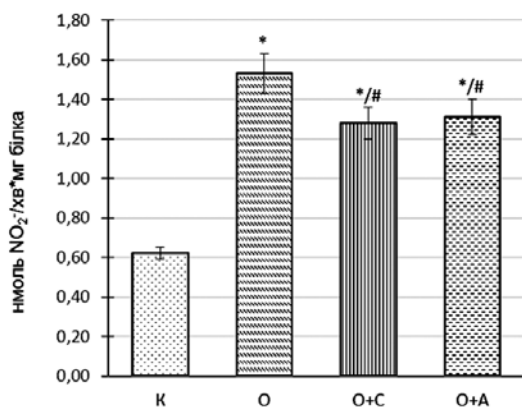


Рис. 3. Активність синтази оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка, ( $M \pm m$ )

**Примітки:** К – контрольна група ( $n=10$ ); О – група щурів після 28-ми денного введення омепразолу ( $n=10$ ); О+С – група щурів після 28-ми денного сумісного введення омепразолу та мультипробіотика «Симбітер» ( $n=10$ ); О+А – група щурів після 28-ми денного сумісного введення омепразолу та мультипробіотика «Алібакт» ( $n=10$ ); \* -  $p < 0,05$  у порівнянні з контролем; # -  $p < 0,05$  у порівнянні з групою щурів, яким вводили один омепразол.

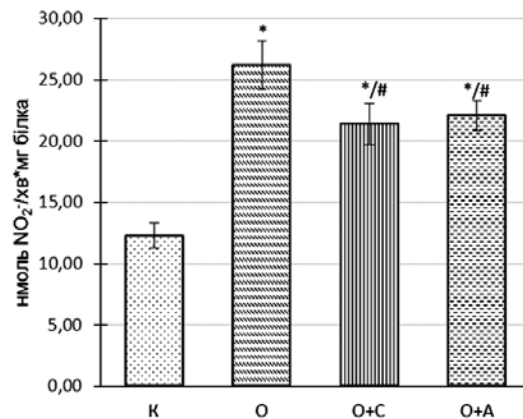


Рис. 4. Активність синтази оксиду азоту в слизовій оболонці товстої кишки щурів, ( $M \pm m$ )

**Примітки:** К – контрольна група ( $n=10$ ); О – група щурів після 28-ми денного введення омепразолу ( $n=10$ ); О+С – група щурів після 28-ми денного сумісного введення омепразолу та мультипробіотика «Симбітер» ( $n=10$ ); О+А – група щурів після 28-ми денного сумісного введення омепразолу та мультипробіотика «Алібакт» ( $n=10$ ); \* -  $p < 0,05$  у порівнянні з контролем; # -  $p < 0,05$  у порівнянні з групою щурів, яким вводили один омепразол.

викликаного омепразолом, за умов сумісного введення омепразолу та мультипробіотика «Симбітер» або «Апібакт».

В результаті проведених досліджень встановлено, що при сумісному 28-ми денному введенні омепразолу з мультипробіотиком «Симбітер» або з мультипробіотиком «Апібакт» вміст нітрит-іонів в сироватці крові статистично достовірно не відрізнявся від контролю.

В слизовій оболонці шлунка мультипробіотики «Симбітер» і «Апібакт» приблизно однаково зменшували вміст нітрит іонів на 24,9% ( $p < 0,05$ ) та 20,2% ( $p < 0,05$ ), відповідно, у порівнянні з групою щурів, яким упродовж 28-ми днів вводили один омепразол (рис. 1). При цьому вміст нітрит іонів у слизовій оболонці шлунка щурів залишався достатньо високим і був більшим у порівнянні з контролем на 83,9% ( $p < 0,05$ ) і 95,4% ( $p < 0,05$ ), відповідно.

Одержані дані відносно вмісту нітрит іонів в слизовій оболонці шлунка щурів після 28-ми денного сумісного введення омепразолу з мультипробіотиками корелювали зі змінами активності NOS. Так, після одночасного введення омепразолу і мультипробіотика «Симбітер» та омепразолу і мультипробіотика «Апібакт» активність NOS зменшувалась на 16,3% ( $p < 0,05$ ) і 14,4% ( $p < 0,05$ ), відповідно (рис. 3). Як і у випадку з вмістом нітрит іонів, активність NOS не відновлювалась до контрольних значень і залишалась більшою на 106,5% ( $p < 0,05$ ) і 111,3% ( $p < 0,05$ ), відповідно, у порівнянні з контролем.

Аналогічна картина спостерігалась у слизовій оболонці товстої кишки. Після 28-ми денного сумісного введення омепразолу і мультипробіотика «Симбітер» та омепразолу і мультипробіотика «Апібакт» вміст нітрит-іону в слизовій оболонці товстої кишки зменшувався на 14,3% ( $p < 0,05$ ) і 11,6% ( $p < 0,05$ ), відповідно (рис. 2). При цьому вміст нітрит-іону в слизовій оболонці товстої кишки залишався достатньо високим у порівнянні з даним показником у щурів контрольної групи.

Активність NOS у слизовій оболонці товстої кишки зменшувалась після сумісного введення омепразолу і мультипробіотика «Симбітер» на 18,3% ( $p < 0,05$ ), а після одночасного введення оме-

празолу і мультипробіотика «Апібакт» - на 15,6% ( $p < 0,05$ ) (рис. 4). За умов одночасного введення омепразолу і мультипробіотиків активність NOS не поверталася до контрольних значень.

Наведені дані свідчать, що по відношенню до системи NO/NOS мультипробіотики «Симбітер» і «Апібакт» проявляли приблизно однаковий ефект.

Одержані дані щодо впливу мультипробіотиків групи «Симбітер» на систему NO/NOS узгоджуються з даними літератури, за якими пробіотичні штами VSL#3 і LGG зменшують активність iNOS у щурів з експериментальним колітом [23].

Вище наведені результати досліджень, в яких показано, що найменшим було зростання концентрації  $\text{NO}_2^-$  в сироватці крові. Пояснювали ми цей факт тим, що NO, який синтезується під час запалення, виконує свої біологічні функції в тканинах, саме тих, де розвивається запальний процес, а саме в слизових оболонках травного тракту за умов розвитку дисбактеріозу. В зв'язку з цим мультипробіотики справляли найбільший вплив на вміст нітрит-іону в сироватці крові, який зменшувався до показників контролю. Той факт, що мультипробіотики, які усували дисбактеріоз, зменшували, але не відновлювали вміст нітрит-іону до рівня контролю в слизових оболонках шлунка та товстої кишки, наводить на думку, що дисбактеріоз, який розвивається на тлі тривалого пригнічення секреції кислоти в шлунку, важлива, але не єдина причина запального процесу в шлунку і товстій кишці, викликаного 28-ми денним введенням омепразолу.

**Висновки.** Тривале пригнічення секреції гідрохлоридної кислоти в шлунку щурів спричиняло надмірну генерацію оксиду азоту в слизових оболонках травного тракту, що проявлялося у збільшенні активності NOS в слизових оболонках шлунка і товстої кишки відповідно на 146,8% ( $p < 0,05$ ) і 113% ( $p < 0,05$ ) при одночасному зростанні концентрації  $\text{NO}_2^-$  в сироватці крові, в слизових оболонках шлунка та товстої кишки на 20% ( $p < 0,05$ ), 144% ( $p < 0,05$ ) і 158% ( $p < 0,05$ ), відповідно.

**Перспективою подальших досліджень** у цьому напрямку є дослідження впливу мультипробіотиків на вміст нітрит-іонів та активність синтази оксиду азоту у інших органах травного тракту за умов тривалої гіпоацидності шлункового соку.

## References

1. Bondar TN. Systema L-argynyn/oksyd azota y ummunitet. *Eksperymentalna i klinichna medytsyna*. 2009; 3: 4-8. [Russian]
2. Brandt Z. *Statysticheskiye metody analiza nablyudenyi*. M: Myr, 1975. 312 s. [Russian]
3. Voronina O, Gryshchuk V, Dzerzhynskyy M. Ultrastrukturnyy analiz klityn slyzovoyi obolonky fundamentalnogo viddilu shlunka shchuriv pry gipergastrynemiyi. *Visnyk Kyivskogo natsionalnogo universytetu imeni Tarasa Shevchenka. Biologiya*. 2007; 49: 13–5. [Ukrainian]
4. Glants G. *Medyko-byologicheskaya statystyka*. M: Praktyka, 1999. 459 s. [Russian]
5. Malyshev YYu. Vvedenye v byokhymyyu oksyda azota: rol oksyda azota v regulyatsyy osnovnykh system organyzma. *Ros zhurn gastroenterol gepatol koloproktol*. 1997; 7 (1): 49-55. [Russian]

6. Radchuk OM, et al. Porivnyalna kharakterystyka vplyvu multyprobiotyktiv «Symbiter® atsydofilnyy» kontsentrovanyy ta «Apibakt®» na morfometrychni pokaznyky slyzovoyi obolonky tovstoyi kyshky shchuriv za umov tryvaloyi giperghastrynemiyi. *Visnyk morfologiyi*. 2009; 15 (1): 7-12. [Ukrainian]
7. Remyzova MY. Rol oksyda azota v norme y pry patology. *Vestn sluzhby Rossyy*. 2000; 2: 634-51. [Russian]
8. Severyna YS. NO: novyy vyglyad na mekhanyzm deystviya starykh lekarstv. *Byomedytynskaya khymyya*. 2005; 51 (1): 19-29. [Russian]
9. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*. 1982; 126 (1): 131-8. PMID: 7181105
10. Bredt DS. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free Radical Res*. 1999; 31: 577-96. PMID: 10630682
11. Kai H, Ito M, Kitadai Y, Chayama K. Chronic gastritis with expression of inducible nitric oxide synthase is associated with high expression of interleukin-6 and hypergastrinaemia. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2004; 19 (12): 1309-14. PMID: 15191513. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.01965.x
12. Rocha BS, Gago B, Barbosa RM, Laranjinha J. Dietary polyphenols generate nitric oxide from nitrite in the stomach and induce smooth muscle relaxation. *Toxicology*. 2009; 265 (1-2): 41-8. PMID: 19778575. DOI: 10.1016/j.tox.2009.09.008
13. Wolf G, Arendt EK, Pfähler U, Hammes WP. Heme-dependent and heme-independent nitrite reduction by lactic acid bacteria results in different N-containing products. *Int J Food Microbiol*. 1990; 10: 323-9. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(90\)90079-K](https://doi.org/10.1016/0168-1605(90)90079-K)
14. Hevel JM, White KA, Marletta MA. Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase. *J Biol Chem*. 1991; 266 (34): 22789-91. PMID: 1720773
15. Salzman A, Denenberg AG, Ueta I, O'Connor M, Linn SC, Szabó C. Induction and activity of nitric oxide synthase in cultured human intestinal epithelial monolayers. *Am J Physiol*. 1996; 270: G565-73. PMID: 8928785. DOI: 10.1152/ajpgi.1996.270.4.G565
16. Kröncke KD, Fehsel K, Kolb-Bachofen V. Inducible nitric oxide synthase in human diseases. *Clin Exp Immunol*. 1998; 113: 147-56. PMID: 9717962. PMCID: PMC1905037
17. Michel T, Feron O. Nitric oxide synthases: which, where, why, and how? *J Clin Invest*. 1997; 100: 2146-52. PMID: 9410890. PMCID: PMC508408. DOI: 10.1172/JCI119750
18. Niedbala W, Cai B, Liew FY. Role of nitric oxide in the regulation of T cell functions. *Ann Rheum Dis*. 2006; 65 (Suppl 3): ii37-40. PMID: 17038470. PMCID: PMC1798386. DOI: 10.1136/ard.2006.058446
19. Shah V, Lyford G, Gores G, Farrugia G. Nitric oxide in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*. 2004; 126 (3): 903-13. PMID: 14988844
20. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S, Palmer RM. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*. 1988; 333 (6174): 664-6. PMID: 3131684. DOI: 10.1038/333664a0
21. Peranzoni E, Marigo I, Dolcetti L, Ugel S, Sonda N, Taschin E, Mantelli B, Bronte V, Zanovello P. Role of arginine metabolism in immunity and immunopathology. *Immunobiology*. 2007; 212 (9-10): 795-812. PMID: 18086380. DOI: 10.1016/j.imbio.2007.09.008
22. Schubert ML. Gastric exocrine and endocrine secretion. *Curr Opin Gastroenterol*. 2009; 25 (6): 529-36. PMID: 19726980. DOI: 10.1097/MOG.0b013e328331b62a
23. Shibolet O, Karmeli F, Eliakim R, Swennen E, Brigidi P, Gionchetti P, Campieri M, Morgenstern S, Rachmilewitz D. Variable response to probiotics in two models of experimental colitis in rat. *Inflamm Bowel Dis*. 2002; 8 (6): 8399-406. PMID: 12454615
24. Tøttrup A, Ny L, Alm P, Larsson B, Forman A, Andersson KE. The role of the L-arginine/nitric oxide pathway for relaxation of the human lower oesophageal sphincter. *Acta Physiol Scand*. 1993; 149: 451-9. PMID: 8128894. doi: 10.1111/j.1748-1716.1993.tb09642.x
25. Wallace JL, Miller MJS. Nitric oxide in mucosa defence: a little goes a long way. *Gastroenterology*. 2000; 119 (2): 512-20. PMID: 10930387
26. Vanderwinden JM, Mailleux P, Schiffmann SN, Vanderhaeghen JJ, De Laet MH. Nitric oxide synthase activity in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *New Engl J Med*. 1992; 327: 511-5. PMID: 1378938. DOI: 10.1056/NEJM199208203270802

УДК 615.24:591.41/.434]:599.323.4

**ВЛИЯНИЕ МУЛЬТИПРОБИОТИКОВ НА СОДЕРЖАНИЕ НИТРИТ-ИОНОВ И АКТИВНОСТЬ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ, А ТАКЖЕ В СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧКАХ ЖЕЛУДКА И ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ГИПОАЦИДНОСТИ ЖЕЛУДОЧНОГО СОКА**

**Пилипенко С. В., Коваль А. А.**

**Резюме.** В результате исследований установлено, что при совместном 28-ми дневном введении омега-3 полиненасыщенных жирных кислот с мультипробиотиком «Симбистер» или с мультипробиотиком «Апибакт» содержание нитрит-

ионов в сыворотке крови статистически достоверно не отличалось от контроля. В слизистой оболочке желудка мультипробиотики «Симбистер» и «Апибакт» приблизительно одинаково понижали содержание нитрит ионов на 24,9% ( $p < 0,05$ ) и 20,2% ( $p < 0,05$ ), соответственно, по сравнению с группой крыс, которым на протяжении 28-ми дней вводили один омепразол. При этом содержание нитрит ионов в слизистой оболочке желудка крыс оставался достаточно высоким и был больше по сравнению с контролем на 83,9% ( $p < 0,05$ ) и 95,4% ( $p < 0,05$ ), соответственно. Аналогичная картина наблюдалась и в толстой кишке. Увеличение синтеза  $\text{NO}_2^-$  есть результатом активизации NOS. Определение активности NOS в слизистых оболочках желудка и толстой кишки крыс показало ее увеличение после 28 дневного введения омепразола на 146,8% ( $p < 0,05$ ) и 113% ( $p < 0,05$ ), соответственно. После длительного совместного введения омепразола с мультипробиотиком «Симбистер» и омепразола с мультипробиотиком «Апибакт» активность NOS уменьшалась на 16,3% ( $p < 0,05$ ) и 14,4% ( $p < 0,05$ ), соответственно. Как и в случае с содержанием нитрит ионов, активность NOS не восстанавливалась до контрольных значений.

**Ключевые слова:** гипохлоргидрия, пробиотики, слизистая оболочка желудка, слизистая оболочка толстой кишки, нитрит ионы.

UDC 615.24:591.41/.434]:599.323.4

**Influence of Multiprobitotics on the Content of Nitrite Ions and the Activity of Nitric Oxide Synthase in Blood Serum and in the Mucous Membranes of the Stomach and Colon of Rats in Conditions of Prolonged Hypoacidity of Gastric Juice**

*Pylypenko S., Koval' A.*

**Abstract.** *Materials and methods.* All animals were divided into 4 experimental groups. The first group of animals served as a control one. They were intraperitoneally administered (in/o) 0.2 mls and perorally (p/o) 0.5 mls of water for injections once a day during 28 days. The animals of the second group were administered omeprazole and p/o 0.5 mls of water for injections once every 24 hours during 28 days. The animals of the third group were administered omeprazole and multiprobitotic "Symbiter® acidophilic" concentrated (Symbiter) once every twenty-four hours during 28 days. The animals of the fourth group were administered omeprazole and multiprobitotic "Apibact®" (Apibact) once every twenty-four hours during 28 days.

*Results and discussion.* The content of nitrite ions in the blood serum did not statistically differ from the control group at daily introduction of omeprazole with the multiprobitotic of "Symbiter" or with the multiprobitotic of "Apibact" during 28 days. In the mucous membrane of stomach the multiprobitotics of "Symbiter" and "Apibact" approximately identically diminished content of nitrite ions by 24.9% ( $p < 0.05$ ) and 20.2% ( $p < 0.05$ ), accordingly, in comparison to the group of rats that during 28th days was administered only omeprazole. Thus, the content of nitrite ions in the mucous membrane of stomach of rats remained high enough and was more than in control group by 83.9% ( $p < 0.05$ ) and 95.4% ( $p < 0.05$ ), accordingly. An analogical picture was observed in the colon. Increase of synthesis of  $\text{NO}_2^-$  was the result of increased activity of NOS.

It is known that bacterial products in a gastrointestinal tract stimulate activity of iNOS of immunocompetency, epithelial and other cells. Some bacteria are able to form NO from nitrogen-containing products. Determination of NOS activity in the mucous membranes of stomach and colon showed the increase in the rats mucous membranes of stomach and colon by 146.8% ( $p < 0.05$ ) and 113% ( $p < 0.05$ ) respectively, after 28 daily introductions of omeprazole. After the protracted compatible introduction of omeprazole+ multiprobitotic "Symbiter" and omeprazole+ multiprobitotic "Apibact", NOS activity diminished by 16.3% ( $p < 0.05$ ) and 14.4% ( $p < 0.05$ ), accordingly. As in the case of nitrite ions content, NOS activity did not recommence to the control values.

*Conclusions.* The protracted oppression of secretion of hydrochloride acid in the stomach of rats caused the excessive generation of oxide of nitrogen in the mucous membranes of digestive tract. That showed up in the increase of NOS activity in the mucous membranes of stomach and colon by 146.8% ( $p < 0.05$ ) and 113% ( $p < 0.05$ ) respectively, and the simultaneous increase of concentration of  $\text{NO}_2^-$  in the blood serum in the mucous membranes of stomach and colon by 20% ( $p < 0.05$ ), 144% ( $p < 0.05$ ) and 158% ( $p < 0.05$ ) respectively.

**Keywords:** hypochlorhydria, probiotics, mucous membrane of the stomach, mucous membrane of the colon, nitrite ions.

Стаття надійшла 18.04.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування