

рефлекторной активности животных в условиях хронической гипергликемии в тесте «открытое поле». Установлено, что курсовое введение N-фенилацетил-L-пролил глицина (ноопепта), прамирацетама, фенилпирацетама (энтропа), цитиколина и цереброкурина, но не пирацетама и экстракта гинкго билоба способно усиливать локомоторную и исследовательскую активность у животных с длительной аллоксан-индуцированной гипергликемией. Способность нормализовать двигательную активность животных в условиях хронической гипергликемии уменьшается в ряду энтроп > прамирацетам > цитиколин > ноопепт ≈ цереброкурин >> пирацетам ≈ экстракт гинкго билоба.

Ключевые слова: аллоксан-индуцированная гипергликемия, ноотропные средства, тест «открытое поле».

Стаття надійшла 4.10.2014 р.

reflex activity of animals in conditions of chronic hyperglycemia in the test «open field». Established that the course administration of N-phenylacetyl-L-prolyl glycine (noopept), pramiracetam, phenilpiracetam (entrop), citicoline and cerebrocurine but not piracetam and ginkgo biloba extract is able to enhance the locomotor and exploratory activity in animals with long-term alloxan-induced hyperglycemia. Ability to normalize the locomotor activity of animals in conditions of chronic hyperglycemia decreases in the series entrop > pramiracetam > citicoline > noopept ≈ cerebrocurine >> piracetam ≈ ginkgo biloba extract.

Key words: alloxan-induced hyperglycemia, nootropic drugs, test «open field».

Рецензент Бобирьев В.М.

УДК 616.316–008–092.18–092.6

А. М. Єліньська, В. О. Костенко

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

NO- ТА NF-κB –ЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕННЯ БЛОКСИНТЕЗУЮЧОЇ ФУНКЦІЇ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

У експерименті на 40 білих щурах досліджено роль NO-синтази і ядерного фактора κB (NF-κB) у механізмах порушень білоксинтезуючої функції піднижньощелепних слинних залоз (СЗ) за умов моделювання метаболічного синдрому (МС). Показано, що ця функція СЗ залежить від функціонального стану NO-синтази. Функціонування нейрональної NO-синтази за цих умов сприяє збільшенню активності α-амілази у тканинах СЗ. Функціонування індукцибельної NO-синтази за умов експерименту пригнічує активність α-амілази та орнітиндекарбоксилази у СЗ. Призначення L-аргініну під час відтворення МС суттєво не впливає на активність α-амілази у тканинах СЗ, але обмежує зниження активності орнітиндекарбоксилази. Введення скевнджеру пероксинітриту L-селенометіоніну та інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов експериментального МС істотно покращує білоксинтезуючу функцію СЗ, що не є характерним при призначенні метформіну гідрохлориду.

Ключові слова: метаболічний синдром, NO-синтази, пероксинітрит, ядерний фактор κB, слинні залози, α-амілаза, орнітиндекарбоксилаза.

Робота є фрагментом НДР “Кисень- та NO-залежні механізми ушкодження внутрішніх органів та їх корекція фізіологічно активними речовинами” (№ держреєстрації 0108U010079).

В останні роки виявлено, що у хворих з метаболічним синдромом (МС) окрім загальноприйнятих його складових (інсулінорезистентність, вісцеральне ожиріння, артеріальна гіпертензія, порушення обміну ліпідів, системна прозапальна відповідь та ін.) розвивається реактивно-дистрофічне ураження слинних залоз (СЗ) з порушенням їхньої функції [1]. Виразність клінічних проявів сіалоаденоза корелює з тяжкістю перебігу МС. Нещодавно висунуто припущення, що загальною ланкою патогенезу, яка об'єднує всі компоненти МС, є порушення сигналізації, пов'язаної з активацією ядерного фактора κB (NF-κB) [3].

Присітно, що через NF-κB опосередкується значна кількість ефектів оксиду азоту (NO) [7]. Завдяки здатності вільно перетинати мембрани ендогенний NO грає важливу роль у забезпеченні процесу секреції слини, регуляції кровопостачання СЗ, нейротрансмісії, утворенні гістогематичного бар'єру, впливає на проліферацію та диференціювання клітин СЗ [15, 16]. У той же час NO є потужною цитотоксичною сполукою, попередником високотоксичного пероксинітриту [14]. Проте участь компонентів системи NO та NF-κB-залежних процесів у патогенезі порушення функції СЗ, у т.ч. білоксинтезуючої, за умов МС залишається нез'ясованою.

Метою роботи було вивчення ролі NO-синтази і NF-κB у механізмах порушень білоксинтезуючої функції піднижньощелепних СЗ щурів за умов моделювання МС.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження були проведені на 40 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-230 г у 8-ми серіях дослідів: у першій необхідні показники вивчали у інтактних тварин (контрольна серія); у другій – після моделювання МС; у третій, четвертій і п'ятій серіях – протягом відтворення МС тваринам вводили відповідно селективний інгібітор нейрональної NO-синтази (nNOS) 7-нітроіндазол (7-NI), селективний інгібітор індукцибельної NO-синтази (iNOS) – аміногуанідин і субстрат NO-синтазної реакції – L-аргінін; у п'ятій – скевнджер

пероксинітриду – L-селенометіонін; у сьомій і восьмій – відповідно інгібітор активації NF-κB – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діамін) та метформіну гідрохлорид.

Для моделювання МС гризунам протягом двох місяців призначали 20% водний розчин фруктози для пиття та «дієту західного типу» [4]. Всі засоби вводили внутрішньоочередово у таких дозах: 7-NI («Sigma», США) – 30 мг/кг [10], аміногуанідин («Sigma», США) – 20 мг/кг [15], L-аргінін («Kyowa Hakko Kogyo Co LTD», Японія) – 500 мг/кг [2], L-селенометіонін («Sigma-Aldrich, Inc.», США) – 3 мг/кг [10], JSH-23 («Santa Cruz Biotechnology», ФРН) – 1 мг/кг [9], метформіну гідрохлорид («Wanbury LTD», Індія) – 200 мг/кг маси щура [8]. Останній засіб призначали через день, інші – 2 рази на тиждень протягом періоду відтворення МС. Тварин декапітували під ефірним наркозом. Активність α-амілази визначали за методикою Каравея за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика». Активність орнітиндекарбоксілази (ОДК) визначали за зниженням вмісту орнітину в інкубаційному середовищі [5]. Отримані дані обробляли варіаційно-статистичним методом з використанням критерію Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення. За умов МС активність α-амілази (див. табл.1) у тканинах піднижньощелепних СЗ знижується на 19.1% ($p<0,01$). За цих умов також зменшується активність ОДК – на 25.5% ($p<0,01$).

Таблиця 1

Показники білоксинтезуючої функції СЗ щурів за умов відтворення МС та зміни функціонального стану NO-синтаз та NF-κB (M±m, n=40)

Умови експерименту	Активність ферментів	
	α-Амілаза, мг/год × г	ОДК, нмоль/г·хв.
Інтактні тварини	75.4±2.2	275.4±10.2
Відтворення МС	61.0±2.1 *	205.3±9.8 *
+ 7-NI	47.0±2.3 */**	231.6±24.0
+ аміногуанідин	67.2±1.6 */**	263.2±13.0 **
+ L-аргінін	64.5±2.3 *	254.4±18.2 **
+ L-селенометіонін	71.0±2.2 **	257.9±15.6 **
+ JSH-23	68.9±2.3 **	245.6±13.3 **
+ метформін	66.5±1.7 *	240.4±17.9

Примітка: * – $p<0,05$ у порівнянні з даними інтактних щурів, ** – $p<0,05$ у порівнянні з даними другої серії.

ОДК є ключовим ферментом у механізмі синтезу поліамінів, які регулюють процеси реплікації та транскрипції ДНК, біосинтезу білків і проліферації клітин [12].

Введення за умов відтворення МС селективного інгібітору nNOS 7-NI знижує в тканинах піднижньощелепних СЗ активність α-амілази – на 23.0% ($p<0,01$) у порівнянні з даними другої серії, але не позначається на величині активності ОДК. Раніше повідомлялося, що за участю nNOS у СЗ продукуються незначні концентрації NO, який регулює процес секреції білків у відповідь на дію аутоміметиків, зокрема, через активацію β-адрено-, VIP-, M-холіно- та K₁-рецепторів [11, 13].

Призначення селективного інгібітору iNOS аміногуанідину підвищує активність α-амілази та ОДК – відповідно на 10.2% ($p<0,05$) та 28.2% ($p<0,01$) у порівнянні з даними другої серії.

Введення тваринам L-аргініну під час моделювання МС достовірно не впливає на величину активності α-амілази, але на 23.9% ($p<0,05$) підвищує у тканинах СЗ активність ОДК у порівнянні з даними другої серії. Це, вочевидь, пов'язано з оптимізацією функціонування неокисного (аргіназного) шляху метаболізму L-аргініну. Застосування L-селенометіоніну за умов експерименту підвищує у тканинах СЗ активність α-амілази – на 16.4% ($p<0,02$) у порівнянні з даними другої серії. Цьому може сприяти вироблення поліамінів, оскільки за цих умов також збільшується активність ОДК – на 25.6% ($p<0,05$) у порівнянні з даними другої серії. Призначення L-селенометіоніну дозволяє уникнути у тканинах таких небажаних ефектів пероксинітриду, як порушення біосинтезу білків і репарації ДНК (через пригнічення алкілтрансферазної реакції), активація протеолітичних процесів [14]. Так, пероксинітрид сприяє інактивації α₁-інгібітора протеїнази і тканинного інгібітора металопротеїнази через окиснення NH- і SH-груп білків.

Нами також досліджено вплив інгібіторів NF-κB JSH-23 та метформіну гідрохлориду на показники білоксинтезуючої функції СЗ. Введення тваринам JSH-23 за умов моделювання МС підвищує у тканинах піднижньощелепних СЗ активність α-амілази та ОДК – відповідно на 13.0% ($p<0,05$) та 19.6% ($p<0,05$) у порівнянні з даними другої серії. У той же час, призначення метформіну гідрохлориду не призводить до достовірних змін активності цих ферментів.

Відомо, що JSH-23 порушує процес транслокації NF-κB у ядро [9], де він зв'язується з відповідними ДНК-послідовностями і впливає на транскрипцію низки генів, відповідальних за синтез багатьох прозапальних медіаторів. Можливість активації металопротеїнази

екстрацелюлярного матриксу та пов'язаних з цим протеолітичних процесів у СЗ також становить небезпеку порушення процесів біосинтезу білка у цих залозах.

Висновки

1. Відтворення МС супроводжується у тканинах піднижньощелепних СЗ щурів достовірним зниженням активності α -амілази та ОДК, що вказує на порушення білоксинтезуючої функції цих залоз. Білоксинтезуюча функція СЗ щурів при відтворенні МС залежить від функціонального стану NO-синтаз. Функціонування pNOS за цих умов сприяє збільшенню активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ. Функціонування iNOS – пригнічує активність α -амілази та ОДК у СЗ. Введення L-аргініну під час відтворення МС суттєво не впливає на активність α -амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ, але обмежує зниження активності ОДК.
2. Призначення скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну за умов експериментального МС істотно покращує білоксинтезуючу функцію піднижньощелепних СЗ, що виявляється у збільшенні активності α -амілази та ОДК.
3. Введення інгібітора активації NF- κ B JSH-23 за умов експериментального МС істотно покращує білоксинтезуючу функцію піднижньощелепних СЗ, що не є характерним при призначенні метформіну гідрохлориду.

Список літератури

1. Afanasyev V. V. Reaktivno-distroficheskie protsessyi slyunnykh zhelez (sialoadenozyi), protekayushchie na fone metabolicheskogo sindroma / V. V. Afanasyev, R.I. Stryuk, S.E. Arutyunyan [i dr.] // Stomatologiya.– 2011.– T.90, No4. – S. 49-53.
2. Drobinska O. Vplyv L-argininu na urazhennya v slizoviy obolontsi shlunka, sprichineni serotoninom / O. Drobinska, L. Ostapchenko, O. Tsiryuk [ta in.] // Visn. Lviv. un-tu. Ser. biol. – 2004. – Vyp. 38. – S. 201-204.
3. Kaydashev I. P. Aktivatsiya NF- κ B pri metabolichnomu sindromi / I.P. Kaydashev // Fiziol. zhurn.– 2012. – T.58, No1. – S. 93-101.
4. Lyashenko L. I. Rol NO-sintaz u mehanizmah porushen vilnoradikalnih protsesiv u tkaninah parodonta i slinnih zaloz schuriv za umov eksperimentalnogo metabolichnogo sindromu / L.I. Lyashenko, A.M. Elinska, V.V. Talash [ta In.] // Svit bIol. ta med. – 2014. – No2. – S. 139-142.
5. Hramov V.A. Prostoy metod opredeleniya aktivnosti ornitindekarboksilazyi v smeshannoy slyune cheloveka / V. A. Hramov. // Klin. lab. diagnostika. – 1997. – No4. – S. 14-15.
6. Cal C. Decrease in salivary secretion by radiation mediated by nitric oxide and prostaglandins / C. de la Cal, A. Lomniczi, C.E. Mohn [et al.] // Neuroimmunomodulation. – 2006. – Vol. 13, №1. – P. 19-27.
7. Fan Y.H. Arginine vasopressin increases iNOS-NO system activity in cardiac fibroblasts through NF-kappaB activation and its relation with myocardial fibrosis / Y.H. Fan, L. Y. Zhao, Q.S. [et al.] // Life Sci. – 2007. – Vol. 81, №4. – P. 327-335.
8. Kravchuk E. The effect of metformin on the myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in the rat model of diabetes mellitus type II / E. Kravchuk, E. Grineva, A. Bairamov [et al.] // Exp. Diabetes Res. – 2011.
9. Kumar A. JSH-23 targets nuclear factor-kappa B and reverses various deficits in experimental diabetic neuropathy: effect on neuroinflammation and antioxidant defence / A. Kumar, G. Negi, S.S. Sharma/Diabetes Obes. Metab.– 2011.– Vol.13, №8.– P.750-758.
10. Laude K. NO produced by endothelial NO synthase is a mediator of delayed preconditioning-induced endothelial protection / K. Laude, J. Favre, C. Thuillez [et al.] // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2003. – Vol. 284, №6. – P. H2053-H2060.
11. Lomniczia A. Role of nitric oxide in salivary secretion / A. Lomniczia, A.M. Suburob, J.C. Elverdinc [et al.] // Neuroimmunomodulation. – 1998. – Vol. 5, № 5. – P. 226-233.
12. Moinard C. Polyamines: metabolism and implications in human diseases / C. Moinard, L. Cynober, J.P. de Bandt // Clin. Nutr. – 2005. – Vol. 24, №2. – P. 184-197.
13. Proctor G.B. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves / G.B. Proctor, G.H. Carpenter // Auton. Neurosci. – 2007. – Vol. 133, №1. – P. 13-18.
14. Szabó S. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics / C. Szabó, H. Ischiropoulos, R. Radi // Nature Reviews. – 2007. – Vol. 6. – P. 662-680.
15. Takeuchi K. Role of endogenous nitric oxide (NO) and NO synthases in healing of indomethacin-induced intestinal ulcers in rats / K. Takeuchi, R. Hatazawa, M. Tanigami [et al.] // Life Sci. – 2007. – Vol. 80, №4. – P. 329-336.
16. Uğar-Cankal D. A multifaceted molecule, nitric oxide in oral and periodontal diseases / D. Uğar-Cankal, N. Ozmeric // Clin. Chim. Acta. – 2006. – Vol. 366, №1-2. – P. 90-100.

Реферати

NO- И NF- κ B ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ БЕЛОКСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Елинская А. Н., Костенко В. А.

В эксперименте на 40 белых крысах исследована роль NO-синтаз и ядерного фактора κ B (NF- κ B) в механизмах нарушений белоксинтезующей функции поднижнечелюстных слюнных желез (СЖ) в условиях моделирования метаболического синдрома (МС). Показано, что данная функция СЖ зависит от функционального

NO- AND NF- κ B -DEPENDENT MECHANISMS OF PROTEIN SYNTHESIS IN RATS' SALIVARY GLAND UNDER EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME

Yelinska A. M., Kostenko V. O.

The role of NO-synthases and nuclear factor κ B (NF- κ B) in the mechanisms impairing protein synthesis function of submandibular salivary glands (SSG) under modeled metabolic syndrome (MS) was investigated on 40 white rats. We have found out this function depends on the functional state of NO-synthases. Functioning of

состояния NO-синтаз. Функционирование нейрональной NO-синтазы в этих условиях способствует увеличению активности α -амилазы в тканях поднижнечелюстных СЖ. Функционирование индуцибельной NO-синтазы в условиях эксперимента угнетает активность α -амилазы и орнитиндекарбоксилазы (ОДК) в СЖ. Назначение L-аргинина существенно не влияет на активность α -амилазы в тканях СЖ, но ограничивает снижение активности ОДК. Введение скэвенджера пероксинитрита L-селенометионина и ингибитора активации NF- κ B JSH-23 в условиях экспериментального МС существенно улучшает белоксинтезирующую функцию СЖ, что не характерно при назначении метформина гидрохлорида.

Ключевые слова: метаболический синдром, NO-синтазы, слюнные железы, α -амилаза, орнитиндекарбоксилаза. Стаття надійшла 1.10.2014 р.

neuronal NO-synthase under these conditions increases the activity of α -amylase in SSG tissues. Functioning of inducible NO-synthase in experimental conditions inhibits the activity of α -amylase and ornithine decarboxylase in SSG. Administration of L-arginine during MS modeling did not significantly affect α -amylase activity in the SSG tissues, but limited the decrease in ornithine decarboxylase activity. The introduction of peroxynitrite scavenger L-selenomethionine and NF- κ B activation inhibitor JSH-23 under the experimental MS significantly improves protein synthesis in SSG, which is not typical in metformin hydrochloride administration.

Key words: metabolic syndrome, NO-synthases, salivary glands, α -amylase, ornithine decarboxylase.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 611.814.1+611.814.3+ 616.379-08.64

О. Я. Жураківська

Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ДРІБНОКЛІТИННИХ ЯДЕР ГІПОТАЛАМУСА НА 14 ДОБУ РОЗВИТКУ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ

Наукова робота присвячена питанням вивчення морфофункціональної організації дрібноклітинних ядер середнього гіпоталамуса і серединного підвищення нейрогіпофіза при стрептозототициновому цукровому діабеті. Встановлено, що на 14 добу розвитку експериментального цукрового діабету в дугоподібному і вентромедіальному ядрах гіпоталамуса спостерігаються адаптаційно-компенсаторні процеси, у відповідь на гіперглікемію і метаболічні зміни в організмі. Дані процеси характеризуються зростанням функціональної активності нейроендокринних клітин, що морфологічно проявляється збільшенням площ їх перикаріонів, ядер і ядерно-цитоплазматичного індексу, зростанням об'ємної щільності нейросекреторних гранул в нейроплазмі. За таких умов морфофункціональна перебудова зовнішньої зони серединного підвищення нейрогіпофіза відображає зміни направлені на швидке поступлення нейросекрету в кров.

Ключові слова: цукровий діабет, дугоподібне ядро, вентромедіальне ядро.

Робота є фрагментом НДР "Морфофункціональна характеристика деяких органів та функціональних систем при цукровому діабеті в постнатальному періоді онтогенезу" (номер держреєстрації 0109U001106) та "Оптимізація комплексного лікування морфологічних ушкоджень травної, ендокринної та сечостатевої систем при цукровому діабеті" (номер держреєстрації 0113U000769).

Цукровий діабет (ЦД) є однією з найбільш актуальних проблем клінічної медицини, що зумовлено широкою поширеністю, клінічним поліморфізмом, тяжкістю ускладнень [4, 5]. В Україні офіційно зареєстровано більше мільйона хворих на цукровий діабет (2,4% від усього населення), у тому числі 7180 дітей віком до 18 років, проте реально кількість людей з недиагностованою патологією перевищує цю цифру у 3-4 рази. При цьому кожного року кількість хворих на цукровий діабет зростає в середньому на 9,8 -11%. У пошуках нових ефективних методів лікування і профілактики даного захворювання останнім часом велику увагу дослідників зосереджено на вивченні ролі нейропептидів гіпоталамуса та їхньої участі в регуляції функції панкреатичних островців [9]. Так, нейрогормони середнього гіпоталамуса впливають на екзо- і ендокринну функції підшлункової залози. Подразнення дугоподібного ядра (ДЯ) викликає виділення В-клітинами інсуліну [6], а електростимуляція вентромедіального ядра (ВМЯ) призводить до виділення глюкагону [10].

Метою роботи було встановлення морфологічних змін у дрібноклітинних ядрах гіпоталамуса і серединному підвищенні експериментального ЦД.

Матеріал та методи дослідження. Матеріалом для дослідження послужили гіпоталамус і гіпофіз 20 щурів-самців лінії Вістар 3- і 12-місячного віку, які розподілялися на 2 групи: контрольну (10 тварин) та експериментальну (10 тварин). У експериментальній групі цукровий діабет моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення стрептозототину [3], контрольній групі тварин у еквівалентній дозі внутрішньоочеревинно вводили 0,1 М цитратний буфер з рН 4,5. На 14 добу експерименту матеріал забирали для дослідження. Тварин у період дослідження утримували на стандартному раціоні в умовах вільного доступу до води та їжі згідно "Правил гуманного поводження з експериментальними тваринами" і "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах".