

УДК: [616.316.4:615.35] – 092.9 – 085.33

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА КОРЕКЦІЯ МУЛЬТИПРОБІОТИКОМ «СИМБІТЕР® АЦИДОФІЛЬНИЙ» ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ТА ПРОТЕЇНАЗНО-ІНГІБІТОРНОГО ДИСБАЛАНСУ СЛИННИХ ЗАЛОЗ В УМОВАХ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ

А.А. Сухомлин, І.С. Непората
ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія", м. Поділля

Робота є фрагментом планової НДР: «Роль біорегуляторів у механізмі розвитку патологічних змін органів системи травлення», № 0109U007982.

Експериментальна корекція мультипробіотиком «Симбітер® ацидофільний» сприяє нормалізації патологічних змін в слинних залозах щурів на тлі довготривалого введення інгібітору протонної помпи, про що свідчить пригнічення вільно-радикального окиснення та протеолітичних процесів.

Ключові слова: слинні залози, «Симбітер® ацидофільний», омепразол, гіпергастринемія, оксидативний стрес, протеоліз.

За даними ВООЗ хвороби органів травлення є одними з найбільш поширених у світі та займають третє місце після захворювань серцево-судинної системи та онкологічних захворювань. Для патогенетичного лікування кислотозалежних захворювань, зокрема, гастроєзофагальної рефлюксної хвороби, функціональної диспепсії, виразкової хвороби та інших використовують антисекреторні препарати: антациди, інгібітори H_2 -рецепторів та селективні інгібітори протонної помпи (ППП): омепразол, лансопразол та інші. Останні знижують шлункову секрецію шляхом незворотнього інгібування H^+, K^+ -АТФази, що призводить до розвитку гіпоацидитету. Тривале застосування ППП викликає гіпергастринемію, яка як відомо призводить до розвитку колоректального раку, морфо-функціональних змін в шлунку та кишечнику [17]. Враховуючи широке використання ППП в медичній практиці, надзвичайно важливим є пошук шляхів корекції її небажаних наслідків. Одним з таких шляхів є застосування пробіотиків, оскільки відомо, що гіпоацидитет сприяє розвитку дисбактеріозу [11]. У зв'язку з цим, згідно з Маастрихтським консенсусом в комплексному лікуванні кислотозалежних хвороб органів травної системи застосовуються пробіотики (Бондаренко В.М. та інші, 2004). Пробіотики не тільки корегують порушення мікроекології ШКТ, але і позитивно впливають на активність імунної та ендокринної систем [12].

Метою роботи було вивчення впливу мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» на патологічні зміни в слинних залозах щурів в умовах омепразол-індукованої гіпергастринемії. Об'єктом дослідження були піднижньощелепні слинні залози та кров щурів.

Матеріал та методи дослідження. Експерименти виконані на 71 щурі-самці лінії Вістар, вагою 180-250г з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією. Тварини були поділені на окремі групи, яким щоденно протягом 7, 14, 21 та 28 днів вводили омепразол (14 мг/кг маси тіла внутрішньоочередно), «Симбітер® ацидофільний» (0,14 мл/кг маси тіла перорально) окремо та в поєднанні. Після введення препаратів тварин розмішували в звичайні клітки. По завершенню експерименту шурам вранці натщесерце проводили евтаназію під уретановим наркозом (50 мг/кг маси тіла внутрішньоочередно) шляхом кровопускання та збирали кров для визначення вмісту гастрину радіоімунологічним методом за допомогою аналітичного набору "MP Biomedicals, LLC" (USA). Нами встановлено, що вміст гастрину в плазмі крові щурів контрольної групи на 28 день склав $59,0 \pm 35,5$ пг/мл, порівняно з дослідними тваринами, яким вводили протягом 28 днів омепразол – $170,7 \pm 90,7$ пг/мл ($p < 0,05$). Таким чином, тривале введення омепразолу викликає гіпергастринемію, вплив якої на метаболізм тканин слинних залоз недостатньо вивчений. В гомогенаті слинних залоз на 7, 14, 21 та 28 добу експерименту визначали вміст окисно-модифікованих протеїнів (ОМБ) [8], молекул середньої маси (МСМ) [6], для оцінки протеїназно-інгібіторного потенціалу тканин слинних залоз щурів досліджували загальну протеолітичну активність [10] та антитриптичну активність [4]. Отримані результати дослідження статистично обробляли з використанням критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Універсальним механізмом ушкодження тканин під дією різних факторів є активація вільно-радикального окиснення, індикаторним показником якого є визначення вмісту окисно-модифікованих протеїнів. Активація процесів вільно-радикального окиснення призводить до ендогенної інтоксикації та до збільшення вмісту молекул середньої маси [5]. Відмічається,

що ендотоксемія різного генезу супроводжується підвищенням концентрації МСМ, при цьому рівень МСМ корелює з тяжкістю захворювання [2]. На сьогоднішній день існує велика кількість пробіотичних лактомісних препаратів, що використовуються для профілактики та корекції кишкових дисбіозів. Для корекції патологічних змін в слинних залозах щурів в умовах омепразол-індукованої гіпергастринемії було обрано мультипробіотик «Симбітер® ацидофільний», основною відмінністю якого від бактеріотерапевтичних засобів попередніх поколінь є наближення його складу до природніх мікробіоценозів відкритих біологічних систем організму людини та тварин, які відрізняються полікомпонентністю, широким спектром біологічних активностей та взаємовигідними міжпопуляційними відносинами [13].

З таблиці 1 видно, що вміст окисно-модифікованих протеїнів в слинних залозах щурів в умовах омепразол-індукованої гіпергастринемії на 28 добу введення омепразолу збільшився в 1.33 рази ($p < 0.05$) порівняно з контролем. На 7, 14 та 21 добу експерименту в умовах корекції гіпергастринемії спостерігалось достовірне зниження окисно-модифікованих протеїнів порівняно із щурами, які не отримували «Симбітер® ацидофільний». Використання мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» протягом 28 діб на тлі омепразол-індукованої гіпергастринемії сприяло вірогідному зменшенню вмісту ОМБ в тканинах слинних залоз порівняно з контролем (табл. 1). Аналізуючи динаміку застосування мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» на 7, 14, 21 добу експерименту отримали вірогідне зменшення вмісту ОМБ в слинних залозах щурів порівняно з тваринами, яким вводили ППП без експериментальної корекції (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст окисно-модифікованих білків та молекул середньої маси в слинних залозах за умов гіпергастринемії та її корекції мультипробіотиком «Симбітер® ацидофільний», (M±m)

Групи тварин	Вміст окисно-модифікованих білків, у.о.	Вміст молекул середньої маси, у.о.
1. Контроль (n=12)	0,363 ± 0,026	0,243 ± 0,016
2. Омепразол 7 діб (n=5)	0,446 ± 0,012	0,286 ± 0,009
3. Омепразол 14 діб (n=5)	0,478 ± 0,012	0,302 ± 0,009
4. Омепразол 21 діб (n=5)	0,524 ± 0,010	0,322 ± 0,011
5. Омепразол 28 діб (n=17)	0,484 ± 0,023	0,321 ± 0,024
6. Омепразол + симбітер 7 діб (n=5)	0,408 ± 0,011	0,270 ± 0,007
7. Омепразол + симбітер 14 діб (n=5)	0,432 ± 0,015	0,286 ± 0,009
8. Омепразол + симбітер 21 діб (n=5)	0,472 ± 0,014	0,294 ± 0,009
9. Омепразол + симбітер 28 діб (n=8)	0,449 ± 0,012	0,290 ± 0,012
10. Симбітер 28 діб (n=4)	0,338 ± 0,017	0,228 ± 0,009
	P ₁₋₂ <0.05 P ₁₋₃ <0.05 P ₁₋₄ <0.05 P ₁₋₅ <0.05 P ₁₋₆ >0.05 P ₁₋₇ <0.05 P ₁₋₈ <0.05 P ₁₋₉ <0.05 P ₁₋₁₀ >0.05	P ₂₋₆ <0.05 P ₃₋₇ <0.05 P ₄₋₈ <0.05 P ₅₋₉ >0.05 P ₂₋₆ >0.05 P ₃₋₇ >0.05 P ₄₋₈ >0.05 P ₅₋₉ >0.05

Отже, за умов довготривалого введення омепразолу в тканинах слинних залоз розвивається оксидативний стрес, про що свідчить вірогідне зростання ОМБ, застосування мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» сприяє пригніченню окиснення білків.

Вміст молекул середньої маси в слинних залозах щурів при 28-денному введенні омепразолу збільшився в 1,32 рази ($p < 0.05$) порівняно з контролем (табл. 1). Це свідчить про розвиток ендотоксемії та суттєвих метаболічних розладів в слинних залозах щурів при тривалому введенні омепразолу. Аналізуючи в динаміці на 7, 14, 21, 28 доби експерименту вміст МСМ в тканинах слинних залоз щурів за умов використання мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» на тлі гіпергастринемії спостерігаємо зниження їх вмісту порівняно з тваринами без корекції (табл. 1). Отже, застосування мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» зменшує вільно-радикальне окиснення та ендотоксемію, що викликана довготривалим застосуванням ППП.

До фундаментальних досягнень сучасної науки відноситься визнання протеолізу як особливої форми фізіологічної регуляції. Регуляторна роль протеолітичних ферментів здійснюється у двох формах: повного та обмеженого протеолізу. Повний протеоліз являє собою деградацію білка, розщеплення аномальних та пошкоджених білків. У той же час обмежений протеоліз вважається універсальним механізмом, відповідальним за утворення, інактивацію та модифікацію гормонів, ферментів та інших фізіологічно-активних речовин. При деяких патологічних станах відбувається надмірна активація протеолізу, що є важливою ланкою патогенезу деструктивних, запальних, алергійних реакцій, порушення процесів гемостазу, а також одним з факторів, що сприяє інвазії клітин злоякісних пухлин. Тому для оцінки метаболічних змін в тканинах слинних залоз щурів в

умовах омепразол-індукованої гіпергастринемії визначали протеїназно-інгібіторний потенціал шляхом дослідження загальної протеолітичної та антитриптичної активності.

Досліджуючи протеїназно-інгібіторний баланс слинних залоз шурів в умовах тривалої омепразол-індукованої гіпергастринемії отримали наступні результати (табл. 2): загальна протеолітична активність при 28-денному введенні омепразолу підвищилась в 1,17 разів ($p < 0.05$), в той час як загальна антитриптична активність зменшилась в 1,15 разів порівняно з контролем ($p < 0.05$). Застосування мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» на 7, 14 добу експерименту призвело до вірогідного зниження активності протеїназ в слинних залозах шурів на тлі гіпергастринемії порівняно з тваринами, яким вводили ІПП без корекції (табл. 2). За цих умов введення мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» на 28 добу на тлі гіпергастринемії вірогідно в 1,06 рази зростала антитриптична активність слинних залоз порівняно з тваринами без корекції (табл. 2). Таким чином мультипробіотик «Симбітер® ацидофільний» нормалізує протеїназно-інгібіторний потенціал слинних залоз шурів за умов омепразол-індукованої гіпергастринемії, про що свідчить пригнічення загальної протеолітичної активності на тлі зростання активності інгібіторів протеїназ.

Таблиця 2

Протеїназно-інгібіторний баланс тканин слинних залоз шурів за умов гіпергастринемії та її корекції мультипробіотиком «Симбітер® ацидофільний», (M±m)

Групи тварин	Загальна протеолітична активність, мкмоль/г*хв	Загальна антитриптична активність, г/кг
1. Контроль (n=12)	0,327±0,010	45,66±0,46
2. Омепразол 7 діб (n=5)	0,546±0,010	47,50±1,18
3. Омепразол 14 діб (n=5)	0,560±0,016	42,83±1,43
4. Омепразол 21 діб (n=5)	0,402±0,009	41,50±0,85
5. Омепразол 28 діб (n=17)	0,383±0,018	39,85±0,43
6. Омепразол + симбітер 7 діб (n=5)	0,449±0,010	48,17±0,85
7. Омепразол + симбітер 14 діб (n=5)	0,465±0,010	44,5±0,97
8. Омепразол + симбітер 21 діб (n=5)	0,399±0,014	43,5±0,84
9. Омепразол + симбітер 28 діб (n=8)	0,391±0,008	42,40±0,40
10. Симбітер 28 діб (n=4)	0,332±0,006	47,91±0,8
	P ₁₋₂ <0.05 P ₁₋₃ <0.05 P ₁₋₄ <0.05 P ₁₋₅ <0.05 P ₁₋₆ <0.05 P ₁₋₇ <0.05 P ₁₋₈ <0.05 P ₁₋₉ <0.05 P ₁₋₁₀ >0.05	P ₂₋₆ <0.05 P ₃₋₇ <0.05 P ₄₋₈ >0.05 P ₅₋₉ >0.05 P ₁₋₆ <0.05 P ₁₋₇ >0.05 P ₁₋₈ <0.05 P ₁₋₉ <0.05 P ₁₋₁₀ >0.05

Підсумок

Тривале застосування омепразолу призводить до достовірного підвищення вмісту в плазмі крові гастрину, і як наслідок до патологічних змін в тканинах слинних залоз, а саме: до активації вільнорадикального окиснення та до розвитку дисбалансу протеїназно-інгібіторного потенціалу за декомпенсаторним типом. Експериментальна корекція омепразол-індукованої гіпергастринемії із застосуванням мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» знижує інтенсивність вільнорадикальних процесів та нормалізує протеїназно-інгібіторний баланс.

Перспективи подальших розробок у даному напрямку. За умов довготривалого використання ІПП виникає гіпоацидітет, який, як відомо, призводить до дисбіоценозу. Тому перспективною є розробка профілактики дисбіоценозу шляхом використання мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний».

Література

1. Арчаков А.И. Модификация белков активным кислородом и их распад / А.И. Арчаков, И.М. Мохосев // Биохимия. – 1991. – № 54(2). – С. 179-186.
2. Бобров В.М. Молекулы средней массы - показатель интоксикации при гнойно-воспалительных заболеваниях ЛОР-органов / В.М. Бобров, С.А. Шишкин // Вестник оториноларингологии. – 1999. – № 1. – С. 33-34.
3. Величковский Б.Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды / Б.Т. Величковский // Вестник РАМН. – 2001. – №6. – С. 45-52.
4. Веремеенко К.Н. Протеолиз в норме и при патологии / Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. – К.: Здоровья, 1988. – 200 с.

5. Владыка А.С. Средние молекулы и проблема эндогенной интоксикации при критических состояниях различной этиологии / А.С. Владыка, Э.Р. Левицкий, Л.П. Поддубная и др. // Анестезиол. и реаниматол. – 1987. – № 2. – С. 17-19.
6. Габриэлян Н.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н.И. Габриэлян, В.И. Липатова // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – с. 131-140.
7. Денисов А.Б. Слонные железы. Слюна. Часть 2 Методы моделирования физиологических и патологических процессов. / Денисов А.Б. – [5-е изд., перераб. и доп.]. – М.: Издательство РАМН, – 2003. – 60 с.
8. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров // Вопросы медицинской химии. – 1995. – № 1. – С. 24-26.
9. Сухомлин А.А. Вплив довготривалого введення омепразолу на тканини слинних залоз щурів / А.А. Сухомлин, К.С. Непорада // Медична хімія, 2009. – Т.11, № 3. – С. 83-85.
10. Уголев А.М. Исследование пищеварительного аппарата у человека / Уголев А.М., Иезуитова Н.Н., Масевич У.Г. – Л.: Наука, 1969. – 216с.
11. Харченко Н.В. Роль кишечной микрофлоры в развитии хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта / Н.В. Харченко, В.В. Черненко, Д.С. Янковский и др. // Журнал практичного лікаря. – 2003. – №4. – С. 20-27.
12. Янковский Д.С. Микробная экология человека. Современные возможности ее поддержания и восстановления / Янковский Д.С. – К.: Эксперт ЛТД, 2005. – 362 с.
13. Янковский Д.С. Настоящее и будущее пробиотиков как биокорректоров микробиологических нарушений (обзор) / Д.С. Янковский, В.В. Бережной, Е.Е. Шунько, [и др.] // Современная педиатрия. – 2004. – №1(12) – С. 111-118
14. Armstrong Donald. Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Protocols / Ed. Armstrong Donald. – Totowa, New Jersey: Humana Press Inc. – 2002. – 186p.
15. Olbe L. Effect of omeprazole on gastric acid secretion and plasma gastrin in man / L. Olbe, C. Cederberg, T. Lind, [et all.] // Scand J.Gastroenterology. – 1989. – V.24 (suppl. 166). – P.27-32.
16. Rob Beynon. Proteolytic enzymes : a practical approach / Ed. Rob Beynon and Judith S.Bond. – [3rd ed.]. – Oxford: Oxford University Press. – 2001. – 340p.
17. Watson S.A. Gastrin – active participant or bystander in gastric cancerogenesis? / S.A. Watson, A.M. Grabowska [et all.] // Nat. Rev. Cancer. – Vol. 6. – №12. – P.936-946.

Реферати

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ КОРРЕКЦИЯ
МУЛЬТИПРОБИОТИКОМ «СИМБИТЕР®
АЦИДОФИЛЬНЫЙ» ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА
И ПРОТЕИНАЗНО-ИНГИБИТОРНОГО
ДИСБАЛАНСУ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ В УСЛОВИЯХ
ГИПЕРГАСТРИНЕМИИ**

Сухомлин А.А., Непорада К.С.

Экспериментальная коррекция мультипробиотиком «Симбiтер® ацидофильный» способствует нормализации патологических изменений в слюнных железах крыс на фоне длительного введения ингибитора протонной помпы, о чем свидетельствует угнетение свободнорадикального окисления и протеолитических процессов.

Ключевые слова: слюнные железы, омепразол, гипергастринемия, окислительный стресс, протеолиз, «Симбiтер® ацидофильный».

Стаття надійшла 25.03.10

**EXPERIMENTAL CORRECTION OF THE
OXIDATIVE STRESS AND PROTEOLYTIC
BALANCE OF SALIVARY GLANDS UNDER
CONDITIONS OF THE HYPERGASTRINEMIA
BY MULTIPROBIOTIC «SYMBITER®
ACIDOPHILUS»**

Sukhomlyn A.A., Neporada K.S.

Experimental correction by multiprobiotic «Symbiter® Acidophilus» promotes normalisation of pathological changes in salivary glands of rats during long introduction of proton pump inhibitor because of free-radical oxidation and proteolytic processes are oppressed.

Key words: salivary glands, omeprazole, hypergastrinemia, oxidative stress, proteolysis, «Symbiter® Acidophilus».

УДК 616.33–092.9:616.8–009.85

**ДЕПОЛІМЕРИЗУЮЧИЙ ВПЛИВ ГОСТРОГО СТРЕСУ НА СЛИЗОВИЙ ГЕЛЬ ШЛУНКА
ЗАЛЕЖНО ВІД ТИПОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ОРГАНІЗМУ**

О.С. Омельченко

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

Робота являється частиною науково-дослідної роботи: «Роль біорегуляторів у механізмі розвитку патологічних змін органів системи травлення», № держреєстрації 0109U007982

На щурах-самцях Вістар простежена чітка залежність між типом реагування організму та станом складових компонентів глікопротеїнів захисного гелю слизової оболонки шлунка за умов дії гострого стресу.