

УДК 577.157.391

АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗИ В ГЕПАТОЦИТАХ ТА ПАРІЄТАЛЬНИХ КЛІТИНАХ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТРОФІЧНОГО ГАСТРИТУ

Дробінська О. В., Гайда Л.М., Карпюк О.С., Остапченко Л.І.

За умов експериментального атрофічного гастриту активність глутатіонтрансферази змінювалась в залежності від термінів розвитку патології, як в гепатоцитах так і в парієтальних клітинах. На ранніх та пізніх стадіях спостерігалась тенденція до зниження ферментативної активності, тоді як на проміжних етапах активність глутатіонтрансферази статистично достовірно підвищувалась. Компенсаторне зростання активності ферменту не сприяє знешкодженню токсичних продуктів, що може бути однією із причин порушення проліферації клітин і хронізації патологічного процесу.

Ключові слова: глутатіонтрансфераза, гепатоцити, парієтальні клітини, атрофічний гастрит.

ВСТУП

Сьогодні атрофічний гастрит розглядають переважно як хронічний запально-дистрофічний процес у слизовій оболонці шлунка, який характеризується порушенням її фізіологічної регенерації, зменшенням кількості залозистих клітин, а у разі прогресування — атрофією залозистого епітелію, розладом секреторної, моторної та інкреторної функцій шлунка [1].

Вважається, що основною причиною розвитку хронічного атрофічного гастриту (ХАГ) є *H.pylori*, але це захворювання може бути викликано і рядом інших факторів: значним вживанням солі, низьким рівнем мікроелементів, вітамінів та антиоксидантів [2, 3].

Одним із механізмів розвитку атрофії слизової оболонки шлунка є порушення у метаболізмі ненасичених жирних кислот, синтезі простагландинів та інших речовин, які забезпечують захист слизової шлунку, активації процесів проліферації та апоптозу, що можуть бути індуковані різноманітними чинниками. Ці процеси призводять до міграції поліморфноядерних лейкоцитів і макрофагів до поверхневого шару слизової шлунка і супроводжуються „оксидативним вибухом”: вивільненням і утворенням цілого ряду сполук, до яких належать супероксидний аніон, оксид азоту, гідроксильні радикали, пероксинітрит [3]. Накопичення токсичних продуктів вільнорадикального окиснення призводить до пошкодження мембран, інактивації ферментів, порушення проліферації клітин [5]. Сьогодні загально визнана роль антиоксидантних ферментів в захисті клітин від пошкоджуючої дії як первинних так і вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [7].

Глутатіонова антиоксидантна система ферментів, яка включає глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу, перешкоджає накопиченню токсичних продуктів ПОЛ. Експериментальними та клінічними дослідженнями встановлено, що система глутатіону бере участь в процесах регуляції проліферації [5, 6], які залучені в патогенез хронічного атрофічного гастриту. Крім того, глутатіонова антипероксидна система відіграє важливу

роль в детоксикації, деградації та виведенні із організму чужерідних органічних сполук. Ця функція реалізовується через роботу глутатіон-S-трансфераз (ГТ).

Метою нашої роботи було дослідити активність глутатіон-S-трансферази парієтальних клітин та гепатоцитів щурів в динаміці розвитку експериментального атрофічного гастриту.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій про проведення медично-біологічних досліджень з використанням тварин згідно Європейської конвенції. В досліді використовували білих лабораторних нелінійних щурів-самців з початковою масою 180-220 г. Групі тварин, протягом 6 тижнів вводили 2% саліцилат натрію інтрагастрально, а питну воду заміняли на 20 мМ деоксихолат натрію [11]. Визначення активності глутатіон-S-трансферази (ГТ) в парієтальних клітинах шлунку і гепатоцитах проводили на 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й і 6-й тиждень розвитку атрофічного гастриту [10]. Парієтальні клітини та гепатоцити виділяли за методами [8, 9]. Вміст білку визначали за методом Бредфорд. Результати статистично обробляли за t-критерієм Стьюдента.

Розвиток атрофічного гастриту підтверджували гістологічними дослідженнями. Відбирали зразки кардіальної, фундальної та пілоричної частин шлунку, які обробляли за стандартними методами. Зразки забарвлювали гематоксиліном та еозином.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

При введенні саліцилату натрію (інгібітора простогландинциклогенази) у щурів спостерігалось ураження слизової шлунку, яке посилювалось деоксихолатом натрію. Останній, розчиняючи захисний поверхневий шар слизу, стимулює рефлюкс жовчі із дванадцятипалої кишки [11].

В результаті гістологічних досліджень на початкових етапах розвитку ХАГ (2-3 тижні) спостерігалось потовщення слизової оболонки на 10-15%, що можна пояснити гіперпроліферацією стовбурових клітин у відповідь на дію пошкоджуючих агентів [1]. На 5-6 тиждень експериментальної моделі товщина слизової зменшувалась в порівнянні з контролем. На пізніх етапах ХАГ спостерігалось часткове розгладження макроскопічних складок шлунку. Залози розташовувались неупорядковано, їх кількість зменшилась в порівнянні з контролем ($P > 0,05$). Починаючи з 4-го тижня спостерігалось проростання сполучної тканини в основу залоз, а також лімфатична інфільтрація, що є стійкою ознакою хронічного атрофічного гастриту [1, 3].

Нами встановлено, що за умови розвитку експериментального атрофічного гастриту активність глутатіонтрансферази значно варіювала в залежності від термінів експериментальної моделі. Згідно з даними, представленими на рис.1, спостерігалось зниження активності глутатіонтрансферази в гепатоцитах на 31 % на першому тижні розвитку атрофічного гастриту в порівнянні з контролем. Тенденція до зниження ферментативної активності була виявлена і в парієтальних клітинах шлунку (рис.2). На другому тижні ферментативна активність залишається зниженою в гепатоцитах, тоді як в парієтальних клітинах спостерігалось достовірне підвищення активності на 23% (рис.2).

АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗИ В ГЕПАТОЦИТАХ ТА ПАРІСТАЛЬНИХ КЛІТИНАХ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ АТРОФІЧНОГО ГАСТРИТУ

Зниження активності ферменту може бути обумовлене надлишком утворюваних, внаслідок розвитку запального процесу, токсичних метаболітів кисню.

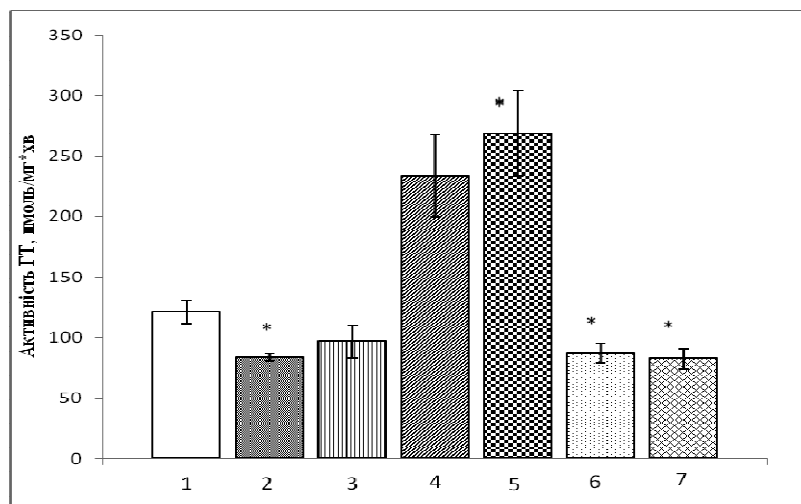


Рис.1. Активність глутатіонтрансферази в гепатоцитах за умов розвитку експериментального атрофічного гастриту щурів.

1 – контроль; 2, 3, 4, 5, 6, 7 – перший, другий, третій, четвертий, п'ятий та шостий тижні розвитку експериментального атрофічного гастриту відповідно; * різниця вірогідна в порівнянні з контролем, $p < 0,05$

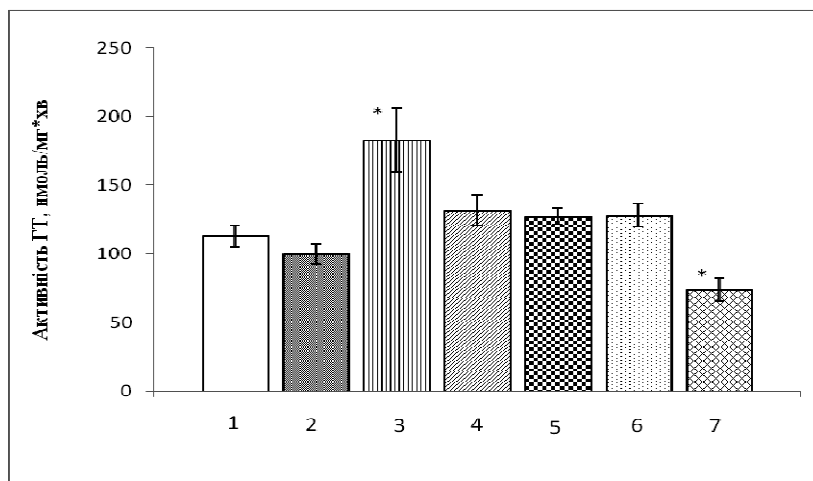


Рис.2. Активність глутатіонтрансферази в парістальних клітинах за умов розвитку експериментального атрофічного гастриту щурів.

1 – контроль; 2, 3, 4, 5, 6, 7 – перший, другий, третій, четвертий, п'ятий та шостий тижні розвитку експериментального атрофічного гастриту відповідно; * різниця вірогідна в порівнянні з контролем, $p < 0,05$

Глутатіонтрансферази – універсальні ферменти, які шляхом трансформації, нековалентного зв'язування і навіть ковалентного приєднання запобігають пошкодженню

ДНК, мітохондрій та інших життєво важливих центрів клітини від шкідливих сполук і в результаті значно збільшують стійкість клітини і організму в цілому [5].

В гепатоцитах на 3,4-й тиждень розвитку експериментального атрофічного гастриту спостерігалось статистично достовірне підвищення активності глутатіонтрансферази в 1,9 та 2,2 рази відповідно, тоді як достовірної зміни ферментативної активності в парієтальних клітинах не зареєстровано.

Підвищення активності ГТ свідчить про активацію процесів знешкодження продуктів перекисного окислення ліпідів, ксенобіотиків в результаті реакцій нуклеофільного заміщення та приєднання. Дані експериментальних досліджень показують, що активація захисних процесів відбувається швидше в шлунку, що можна пояснити, зокрема, впливом саліцилату та деоксіхолату натрію безпосередньо на слизову оболонку. Підвищення активності глутатіонтрансферази в парієтальних клітинах пов'язано з участю ферменту в ендogenous метаболізмі і забезпечує локальний захист клітин. В гепатоцитах захисні процеси є більш виражені і тривалі оскільки детоксикація чужорідних субстанцій, які потрапляють через шлунково-кишковий тракт в основному відбувається в печінці.

Нами встановлено достовірне зниження ферментативної активності на 28% та 32 % в гепатоцитах щурів на 5,6-й тиждень розвитку атрофічного гастриту в порівнянні з контрольною групою тварин. В парієтальних клітинах на 6-й тиждень активність глутатіонтрансферази знижувалась на 30% і супроводжувалась частковим розгладженням макроскопічних складок шлунку, проростанням сполучної тканини в основу залоз, що є стійкою ознакою перетворення гострого запального процесу в хронічний. Відомо, що ГТ високоспецифічна до GSH і зниження пулу відновленого глутатіону може призвести до падіння активності ферменту на пізніх етапах розвитку експериментального атрофічного гастриту. [5]

ВИСНОВКИ

Таким чином, аналіз представленого матеріалу дозволив виявити особливості змін активності глутатіон-S-трансферази в парієтальних клітинах і гепатоцитах щурів в динаміці розвитку експериментального атрофічного гастриту. Компенсаторне зростання активності ферменту не сприяє знешкодженню токсичних продуктів, що може бути однією із причин порушення проліферації клітин і хронізації патологічного процесу.

Список літератури

1. Аруин А.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Е.П. Хронический гастрит. – Амстердам, 1993. – 99 с.
2. Бабак О.Я., Протас Ю.В. Хронический атрофический гастрит – точка отсчета начала канцерогенеза // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 5 (25). – С. 9 – 14.
3. Букин Ю.В., Драудин-Криленко В.А. Молекулярно биологические механизмы гастроанцерогенеза и подходы к профилактике рака желудка // Успехи биол.химии. - 2000. - Т.40. - С. 329-356.
4. Кахновер Н. Б., Хмелевский Ю. В. Глутатион-S-трансферазы, ферменты детоксикации // Укр. биохим. Журнал. – 1983. - Т. 55, №1. – С. 51-55.
5. Колесниченко Л. С., Кулинский В. И. Глутатионтрансферазы // Успехи современной биологии - 1989.- Т.107, №2. - С. 179-194.

АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗИ В ГЕПАТОЦИТАХ ТА ПАРИЄТАЛЬНИХ КЛІТИНАХ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ АТРОФІЧНОГО ГАСТРИТУ

6. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатиона // Успехи современной биологии. - 1990. - Т. 110, №1. - С. 20 – 26.
7. Мазо В.К. Глутатион как компонент антиоксидантной системы желудочно-кишечного тракта // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – № 1. – С. 47 - 53.
8. Петренко А.Ю., Сукач А.Н., Росляков А.Д. Выделение гепатоцитов крыс неферментативным методом: детоксикационная и дыхательная активности // Биохимия. - 1991. - Т. 56, Вып. 9. - С. 1647-1650.
9. Таиров М.М., Берсимбаев Р.И., Аргутинская С.В., Салгани Р.И. Клеточная локализация аденилатциклаз, стимулируемых гистамином и простагландином E₂, в слизистой оболочке желудка крыс и их роль в регуляции желудочной секреции // Биохимия. - 1983. - Т.48. - №6. - С. 1035-1041.
10. Habig W.H., Parst M.J., Jakobv W.B. Glutathione-S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. —1974. —Vol. 249, № 22. —P. 7130—7139.
11. Wang L., Chen S., Chen Z., Cai J., Si J. Morphological and pathologic changes of experimental chronic atrophic gastritis (CAG) and the regulating mechanism of protein expression in rats // J. Zhejiang Univ. SCIENCE B. - 2006. - Vol. 7(8). - P. 634-640.

Дробинская О.В., Гайда Л.Н., Карпюк О.С., Остапченко Л.И. Активность глутатион- -S-трансферазы в гепатоцитах и париетальных клетках желудка крыс во время развития экспериментального атрофического гастрита // Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. - 2007. - Серия «Биология, химия». – Т. 20 (59), № 1. – С. 141-145.

Исследования показали, что в условиях развития экспериментального хронического атрофического гастрита (ХАГ) активность глутатионтрансферазы разнонаправлено изменялась в зависимости от сроков экспериментальной модели, как в гепатоцитах так и в париетальных клетках. На ранних и поздних стадиях наблюдалась тенденция к снижению ферментативной активности, тогда как на промежуточных этапах активность глутатионтрансферазы статистически достоверно возрастала. Компенсаторное увеличение активности фермента не способствует обезвреживанию токсических продуктов, что может быть одной из причин нарушения пролиферации клеток и хронизации патологического процесса.

Ключевые слова: глутатионтрансфераза, гепатоциты, париетальные клетки, атрофический гастрит.

Drobinska L., Gayda L., Karpyuk O., Ostapchenko L. Glutathione-S-transferase activity in rat parietal cells and hepatocytes during development of chronic atrophic gastritis // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V.I. Vernadskogo. Series “Biology, chemistry”. – 2007. – Vol. 20 (59), № 1. – P. 141-145.

Activity of glutathione-S-transferase was changed in rat parietal cells and hepatocytes during development of chronic atrophic gastritis. On early and late stages of pathology the tendency of enzyme activity decreasing was showed, whereas at the middle point we observed statistically significant increasing glutathione-S-transferase activity. Compensatory increasing of enzyme activity does not promote neutralization of toxic products. It can be one of causes of cell proliferation infringement and chronisation of pathological process.

Keywords: glutathione-S-transferase, parietal cells, hepatocytes, atrophic gastritis.