

УДК 616.33-016.73(574)

И.А. ИШИГОВ

АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА И ЕЕ УЛЬТРАСТРУКТУРА ПРИ ЯЗВЕННОМ ПОРАЖЕНИИ И ПУТИ ИХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

(Международный казахско-турецкий университет им. Х.А.Ясави,
Институт естествознания и медицины, г. Туркестан).

В митохондриях слизистой оболочки желудка (СОЖ) у подопытных крыс с язвенным поражением изучено влияние препарата супрадина на активность цитохромоксидазы. Отмечено, что при экспериментальной терапии язвенного поражения желудка этим препаратом происходит значительная активация цитохромоксидазы и усиление регенераторных процессов в СОЖ.

Изучение метаболических основ патогенеза язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки и коррекция возникающих при этом нарушений является одной из актуальных проблем современной гастроэнтерологии. Немаловажную роль в этом отводится и ферментам биоэнергетического обмена, от интенсивности которого зависит оптимальное морфо-функциональное состояние СОЖ и слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки (СОДПК) [1]. Одним из этих ферментов является цитохромоксидаза (ферроцитохром с: O_2 -оксидоредуктаза; ЦХО). Как известно, он входит в состав терминального звена электрон-транспортной системы в митохондриях и катализирует перенос электронов окисляемых субстратов от цитохрома С к кислороду. Определение активности ЦХО позволяет судить об общей скорости митохондриального дыхания и, следовательно, о состоянии биоэнергетического обмена, в частности, о синтезе АТФ.

В литературе встречаются неоднозначные данные, указывающие на нарушение синтеза АТФ и креатинфосфата в ткани желудка при стрессовых язвах [2], а также снижение поглощения кислорода клеточным соком, выделенных из гомогенатов СОЖ и СОДПК, уменьшение содержания АТФ в эритроцитах [3] и витаминов при язвенной болезни [4].

Однако, данных по изучению активности ЦХО и тем более коррекции ее изменений в митохондриях СОЖ как у больных с язвенной болезнью, так и у животных с экспериментальным язвенным поражением, которые могли бы про-

лить свет на механизм этих сдвигов, в литературе встречаются крайне недостаточно.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение активности ЦХО в митохондриях СОЖ и ее ультраструктуру у крыс с язвенным поражением, а также после экспериментальной терапии поливитаминным препаратом с минеральными веществами и микроэлементами супрадином (Швейцария, фирма «Рош»).

Поводом для проведения этих опытов на крысах с язвенным поражением и о целесообразности экспериментальной терапии супрадином послужили сведения о недостаточности указанных незаменимых компонентов пищи у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки [5,6], а также сбалансированный состав этого препарата витаминами и минеральными веществами с микроэлементами по сравнению с другими препаратами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовали белых крыс-самцов с исходной массой 180-200г., у которых язвенное поражение желудка вызывали голоданием [7,8]. Эта модель по данным литературы считается более адекватной моделью язвенной болезни желудка у человека. По этой модели подопытные крысы в течение 4-х дней содержались в условиях полного голодания, а на 5-день их кормили «досыпта». Такое воздействие повторялось трехкратно. Вызывая язвенное поражение желудка (контроль проводился выборочными

патоморфологическими исследованиями) крыс продолжали кормить еще в течение последующих 7 дней и таким образом, воспроизводили картину хронического язвенного поражения.

Провели 3 серии экспериментов. В I-ю серию вошли животные с язвенным поражением; во II-ю – животные, которым на фоне воспроизведенного язвенного поражения желудка вводили супрадин из расчета 23,3 мг/кг массы тела в 1%-ном крахмальном геле однократно, перорально, утром натощак в течение 6 дней до конца опытов. Эта доза соответствует терапевтической, назначаемая больным.

III-ю серию опытов составили животные не получавшие препарат, но которым в том же объеме вводили воду. Контролем для всех серий экспериментов служили интактные животные.

Перед забоем крыс желудочное содержимое подвергали нейтрализации, путем введения 2%-ного раствора бикарбоната натрия. После декапитации подопытных животных извлекали желудок на охлаждаемом (4°C) предметном столике и брали соскоб из слизистой, которую затем подвергали дифференциальному ультрацентрифугированию (в ультрацентрифуге «К-24», Германия) для получения митохондриальной фракции и определяли в ней активность ЦХО спектрофотометрически [9], белок определяли по Lowry et al. [10]. Заживление язвенных дефектов и ультраструктурную организацию СОЖ у подопытных животных исследовали с помощью светового и электронного микроскопов.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t – критерия Стьюдента-Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования показали, что в митохондриях СОЖ у подопытных крыс с язвенным поражением (I-я серия опытов) активность ЦХО повышается в 2,38 раза и составляет $16,5 \pm 1,18$ мкг формазана на мг белка, при контроле $6,91 \pm 0,76$ ($p < 0,001$).

Такое увеличение активности ЦХО в митохондриях указывает на усиление утилизации кислорода тканью СОЖ, что можно рассматривать как одно из выражений компенсаторно-приспособительных механизмов в ответ на стресс-реакцию, вызванную голоданием и о включении

дыхательной цепи на свободное, нефосфорилирующее окисление, приводящее к подавлению сопряжения митохондриального дыхания и окислительного фосфорилирования, что было установлено нами в предыдущих исследованиях [11]. Не исключено, что в механизме повышения активности ЦХО важная роль принадлежит увеличению уровня глюкокортикоидов в клетках СОЖ в результате усиления их секреции корой надпочечников в ответ на стресс-реакцию, вызванную голоданием. Известно, что глюкокортикоиды активируют ЦХО путем воздействия на липидное микроокружение ферmenta в мембране, особенно на молекулы кардиолипина [12].

Несмотря на повышение активности ЦХО в митохондриях СОЖ у подопытных крыс с язвенным поражением ожидалось повышение продукции АТФ. Однако, как показали наши предыдущие данные [13] и данные литературы [2,3], отмечается снижение уровня этого макроэрга в СОЖ у подопытных животных. Это наталкивает на мысль о повреждении мембран митохондрий, о разобщении дыхания и окислительного фосфорилирования и, следовательно, снижении образования АТФ.

Действительно, при электронно-микроскопическом исследовании СОЖ подопытных крыс с язвенным поражением было обнаружено набухание и просветление матрикса митохондрий, которые имели атипичную форму и различную величину с редкими кристаллами с утратой гранул, что свидетельствует о глубоких нарушениях энергообразующего аппарата клеток СОЖ (рис. 1).

Экспериментальная терапия язвенного поражения супрадином привело к еще большей активации ЦХО в митохондриях СОЖ (II-я серия опытов) и составила $21,4 \pm 1,88$ мкг формазана на 1 мг белка по сравнению с данным подопытных крыс, не получавших этого препарата (I-я серия опытов – $16,5 \pm 1,18$ ($p < 0,05$)). Эти данные свидетельствуют о включении компонентов препарата, в частности ионов железа и меди в состав простетической группы фермента и о положительном влиянии на пораженную ткань. Так, ультраструктурный анализ СОЖ подопытных крыс с язвенным поражением получавших этот препарат, показал увеличение протяженности и плотности кристаллов митохондрий, в частности, главных клеток и, следовательно, восстановлении их морфо-функциональной активности.

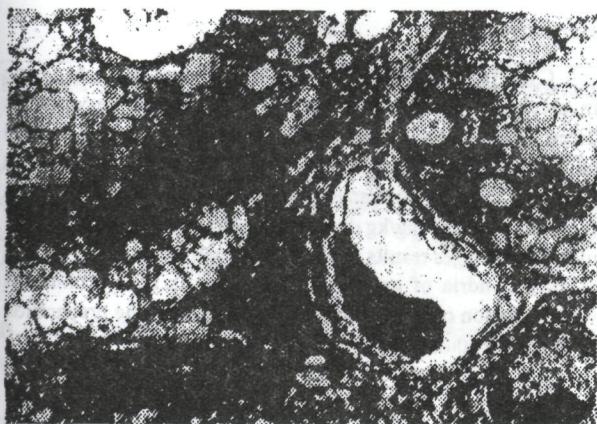


Рис. 1. Набухание и просветление матрикса митохондрий главных клеток СÖЖ подопытной крысы с язвенным поражением (x 10 000)

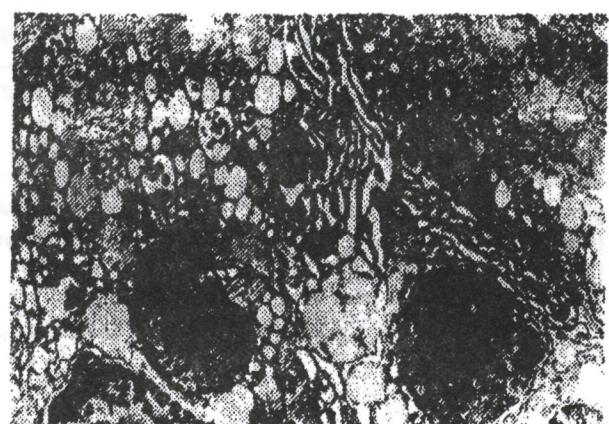


Рис.2. Ультраструктура СÖЖ подопытной крысы с язвенным поражением после экспериментальной терапии супрадином (10 000)

циональной целостности, стало быть и сопряжении дыхания и окислительного фосфорилирования в них (рис. 2).

Известно, что супрадин влияет на дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях СÖЖ, не изменяя уровень глюкокортикоидов в организме. В опытах *in vitro* мы установили [14], что действие на стимуляцию дыхания препарат осуществляется путем активации сукцинатдегидрогеназы, что, по-видимому, связано с включением рибофлавина, входящего в состав супрадина в состав кофермента (т.е. ФАД) этого фермента. Следовательно, можно полагать, что повышение активности ЦХО при введении супрадина в митохондриях СÖЖ подопытных животных с язвенным поражением связано с использованием железа и меди, содержащихся в нем (по 10 и 1 мг соответственно) для биосинтеза белковой части изучаемого фермента.

Таким образом, экспериментальная терапия язвенного поражения супрадином приводит к стимуляции некоторых ферментов терминального звена в цепи переноса электронов в митохондриях и усилиению регенераторных процессов в СÖЖ.

ЛИТЕРАТУРА

- Levi A., Sikevitz F. (Леви А., Сикевич Ф.). /Структура и функции клетки. Пер. с англ. М.: «Мир». 1971.
- Крышень П.Ф., Колпаков А.А., Ткач Ю.И. Стресс и его патогенетические механизмы. /Материалы Всесоюз. симпоз. Кишинев: Штиинца. 1973. С. 28-29.
- Егорова А.М. // Инфекционная и неинфекционная гастроэнтерология. Саратов. 1989. С.69-73.

4. Литинская Э.В. Факторы, влияющие на обеспеченность витаминами В₁, В₆, РР и С организма больных язвенной болезнью. //Врач. дело. 1977. №6. С. 91-93.

5. Бегимбетова Р. С. Содержание некоторых витаминов у больных язвенной болезнью. //Здравоохранение Казахстана. 1974. № 6. С. 52-53.

6. Паращак А.П. Биологическая роль и практическое применение микроэлементов // Тез. докл. 7-го Всесоюз. совещ. Т. 2. Рига. 1975. С 162-163.

7. Екель Т.Д., Туляганов П.Д. / Механизмы патологических процессов. Т. 1976. Вып. 1. С. 46-47.

8. Ишигов И.А., Хаджиев К.Х. Модификация модели экспериментальной язвы желудка / Удостоверение на рац. предложение. № 888. Выд. Таш.ГосМИ в 1988 г.

9. Малюк В.И. Современные методы биохимии. Киев: Наукова думка. 1977.

10. Lowry O. H, Rozebrough N. J., Farr A. I., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. N1.

11. Ишигов И.А. Исследование некоторых показателей биоэнергетического метаболизма в слизистой оболочке желудка при ее экспериментальном язвенном поражении в условиях применения супрадина. //Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. 2006. №6. С.67-70.

12. Chuang T.F., Crane F. L. Phospholipids in the cytochrome oxidase reaction. //J. Bioenerg. 1973. Vol. 4. N 6.

13. Ишигов И.А. Давлетшина Л.Н. Комарин А.С. и др. Итоги научных исследований по актуальным проблемам мед. науки и здравоохран./ Материалы научн.-практ.конференции I ТашГосМИ. 1993. С. 142-143.

14. Ишигов И.А. Состояние биоэнергетического метаболизма и пути его коррекции при экспериментальном язвенном поражении желудка: Автореф. дисс....докт. мед. наук. Т., 1999. 38 с.

Резюме

Егеуқұрықтарда ашығу өдісімен шақырылған эксперименттік ойық жара зақымдалуы кезінде асқазанның

кілегей қабатының (АКК) митохондрийлерінде цитохромоксидаза белсенділігінің бақылау тобымен салыстырығанда 2,38 есе жоғарылағаны анықталған.

Тәжірибедегі асқазанның эксперименттік ойық жара зақымдалуы бар жануарларға пероральді жолмен 6 күн бойы 23,3 мг/кг мөлшерде минералды заттар мен микроэлементтері бар поливитаминді супрадин препаратын (Швейцария, «Рош») енгізгенде фермент белсенділігінің одан өрі жоғарылауы байқалған; бұл — препараттың құрамындағы темір және мыс иондарының осы ферменттің простетикалық тобына енуімен байланысты екені тура-лы болжам жасалынды.

Summary

Cytochromoxidase activity in mitochondria of rats gastric in ulcerous experimental damages caused by starvation is determined to be 2,38 times higher than in the controls. Peroral administration of polyvitamin preparation with mineral substances and microelements supradine (Switzerland, Roshe) in the dose of 23,3 mg/kg during 6 days to rats with experimental ulcerous damages results in even higher activation of the enzyme in mitochondria of gastric mucosa. That is likely connected with inclusion of ions of ferrum and copper of the preparation in to the prosthetic group of cytochromoxidase.