

УДК 616.316 – 056.5 – 092.9

Гордієнко Л.П.

ПРОТЕЇНАЗНО-ІНГІБІТОРНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ТА ВІЛЬНО-РАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ У ТКАНИНАХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ ЗА УМОВ ГЛУТАМАТ-ІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ

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

За умов моделювання глутамат-індукованого ожиріння виникають патологічні зміни у тканинах слинних залоз щурів: дисбаланс протеїназно-інгібіторного потенціалу, активація вільно-радикального окиснення та розвиток оксидативного стресу, що супроводжується ендотоксемією.

Ключові слова: слинні залози, ожиріння, глутамат натрію, протеїназно-інгібіторний потенціал, оксидативний стрес.

Робота є фрагментом НДР «Роль біорегуляторів у механізмі розвитку патологічних змін органів системи травлення», реєстраційний номер 0109U007982.

Вступ

На сьогодні, згідно висновку експертів ВОЗ, у світі спостерігається епідемія ожиріння: близько 1,1 мільярда осіб на планеті мають надмірну масу тіла [2, 4]. До 2025 року прогнозують збільшення удвічі кількості людей з ожирінням, що безумовно пов'язано з обмеженням фізичної активності, хаотичним режимом харчування, зростанням в раціоні висококалорійних продуктів і легкозасвоєваних вуглеводів, а також широким і безконтрольним використанням в харчовій промисловості та в мережі підприємств громадського харчування харчових добавок, перш за все, глутамату натрію. Наукові дискусії щодо безпечності споживання харчової добавки глутамату натрію тривають впродовж 40 років, аж до сьогодні. За даними літератури, глутамат натрію викликає розвиток ожиріння і захворювання травного тракту [7, 11, 12].

Загальновідомо, що слинні залози є чутливими до метаболічних та функціональних змін в організмі, особливо в патологічних умовах [9]. За даними літератури, ожиріння та асоційовані з ним патологічні стани можуть привести до зниження функціонування клітин слинних залоз і як наслідок зниження салівації, підвищення в'язкості слини, розвитку ксеростомії. Порушення функції слинних залоз призводить до розвитку патологічних процесів в органах ротової порожнини, підвищує ризик розвитку карієсу та захворювань тканин пародонта, а також викликає порушення процесів травлення в інших відділах шлунково-кишкового тракту [1, 9, 14]. Водночас патогенетичні механізми змін у слинних залозах за умов ожиріння залишаються недостатньо вивченою проблемою сучасної медицини.

Одним з фундаментальних досягнень науки є визначення протеолізу як особливої форми фізіологічної регуляції. Надмірна активація протеолізу є небезпечною для білкових структур тканин і викликає розвиток деструктивних і запальних змін, алергійних реакцій, порушення процесів гемостазу, а також є одним з факторів, що сприяє інвазії клітин злоякісних пухлин. Об'єктивна оцінка системи протеолізу можлива лише за умов урахування загальної протеолітичної активності досліджуваного субстрату та активності

інгібіторів протеїназ, які гальмують протеолітичні ферменти. Їх співвідношення визначається як протеїназно-інгібіторний потенціал [3].

Важливе значення у розвитку патологічних змін при ожирінні має надмірна активація вільно-радикальних процесів і розвиток оксидативного стресу. Карбонілювання білків є одним з маркерів оксидативного стресу. Найважливішим наслідком окисної модифікації білків є інактивація ферментів, підвищена чутливість модифікованих білків до протеолізу. За даними літератури, при ожирінні спостерігається підвищення карбонілювання білків, при цьому рівень карбонілювання білків позитивно корелює з індексом маси тіла (ІМТ) та підвищеною експресією ФНП-6, ІЛ-6 [13, 15]. Активація процесів вільно-радикального окиснення призводить до ендогенної інтоксикації та до збільшення вмісту молекул середньої маси [8].

Мета дослідження

Вивчення протеїназно-інгібіторного потенціалу та вільно-радикальних процесів у тканинах слинних залоз щурів за умов глутамат-індукованого ожиріння.

Матеріали та методи

Експерименти виконані на 20 щурах обох статей з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією. У щурів моделювали експериментальне ожиріння, викликаючи глутаматом натрію. На початку експерименту щури були розділені на 2 групи. I – інтактний контроль (4-х місячні щури). Новонародженим щурам II групи підшкірно у об'ємі 4 мг/г вводили глутамат натрію на 2, 4, 6, 8, 10 день життя. Через 4 місяці у піддослідних тварин визначали ІМТ. Після чого тварин декапітували. Евтаназію здійснювали під уретановим наркозом (50 мг/кг маси тіла внутрішньоочередово) шляхом кровопускання. В гомогенаті піднижньощелепних та під'язикових слинних залоз щурів визначали протеїназно-інгібіторний потенціал за активністю протеїназ [10] і загальної антитриптичної активності [3], вміст окисно-модифікованих білків (ОМБ) [6] та молекул середньої маси (МСМ) [5]. Результати досліджень обробляли методом варіаційної статистики з використанням U-критерію Мана Уїтні.

Результати та їх обговорення

Нами встановлено, що у щурів контрольної групи ІМТ становив $0,57 \pm 0,02$ г/см². У щурів ІІ групи, яким моделювали ожиріння, викликане глутаматом натрію, ІМТ вірогідно зростав у 1,21

разу порівняно з тваринами контрольної групи ($0,69 \pm 0,03$ г/см², $P < 0,05$). Таким чином, у щурів ІІ групи спостерігається достовірне збільшення ІМТ порівняно з контролем, що свідчить про розвиток ожиріння.

Таблиця 1
Протеїназно-інгібіторний потенціал тканин слинних залоз щурів за умов глутамат-індукованого ожиріння, (M±m)

Групи тварин	Загальна протеолітична активність, мкмоль/г*хв.	Загальна антитриптична активність, г/кг
1. Контроль (n=9)	0,47±0,01	42,87±0,77
2. Ожиріння (n=11)	0,62±0,01	34,62±0,64
Статистичний показник	P1-2 < 0,05	P1-2 < 0,05

Нами встановлено, що за умов глутамат-індукованого ожиріння у тканинах слинних залоз щурів вірогідно підвищується у 1,32 разу загальна протеолітична активність порівняно з контролем (табл. 1). За цих умов в тканинах слинних залоз щурів вірогідно зменшується в 1,24

разу загальна антитриптична активність порівняно з тваринами, яким не моделювали глутамат-індуковане ожиріння (табл. 1). Таким чином, за умов глутамат-індукованого ожиріння в тканинах слинних залоз щурів виникає дисбаланс протеїназно-інгібіторного потенціалу.

Таблиця 2
Вміст окисно-модифікованих білків та молекул середньої маси у тканинах слинних залоз щурів за умов глутамат-індукованого ожиріння, (M±m)

Групи тварин	Окисно-модифіковані білки, ум.о.	Молекули середньої маси, ум.о.
1. Контроль (n=9)	0,16±0,01	0,17±0,01
2. Ожиріння (n=11)	0,23±0,01	0,24±0,01
3. Статистичний показник	P1-2 < 0,05	P1-2 < 0,05

Встановлено, що за умов глутамат-індукованого ожиріння у слинних залозах щурів вірогідно підвищується у 1,44 разу вміст ОМБ порівняно з контролем (таблиця 2). За цих умов в тканинах слинних залоз щурів вірогідно зростає в 1,41 разу вміст молекул середньої маси порівняно з тваринами, яким не моделювали ожиріння (таблиця 2). Отже, за умов моделювання глутамат-індукованого ожиріння в тканинах слинних залоз щурів виникає активація вільно-радикальних процесів, що призводить до ендотоксемії.

Висновок

Отже, моделювання глутамат-індукованого ожиріння у щурів призводить до патологічних змін в тканинах слинних залоз, а саме: дисбалансу протеїназно-інгібіторного потенціалу, активації вільно-радикального окиснення та розвитку оксидативного стресу, що супроводжується ендотоксемією.

Перспективи подальших досліджень

Для вивчення механізмів розвитку патологічних змін у слинних залозах щурів за умов глутамат-індукованого ожиріння дослідити в тканинах слинних залоз щурів стан антиоксидантної та NO-ергічної систем, а також провести патоморфологічні дослідження.

Література

1. Арутюнян С.Э. Заболевания слюнных желез у больных с метаболическим синдромом : автореф. дис. на соискание ученой степени кандидата медицинских наук : спец. 14.01.14 «Стоматология» / С.Э. Арутюнян. – М., 2012. – 25 с.

2. Бенца Т.М. Диетотерапия ожирения / Т.М. Бенца // Эндокринология. – 2012. – 17, № 1. – С. 102-105.

3. Веремеенко К.Н. Протеолиз в норме и при патологии / К.Н. Веремеенко, О.П. Голобородько, А.И. Кизим. – К.: Здоровья, 1988. – 200 с.

4. Власенко М.В. Цукровий діабет і ожиріння – епідемія XXI століття: сучасний підхід до проблеми / М.В. Власенко, І.В. Семеник, Г.Г. Слободянюк // Український терапевтичний журнал. – 2011, № 2. – С. 50-55.

5. Габризян Н.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н.И. Габризян, В.И. Липатова // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 131-140.

6. 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.

7. Лещенко І.В. Вплив тривалого введення глутамату натрію на структуру підшлункової залози щурів / І.В. Лещенко, В.Г. Шевчук, Т.М. Фалалеева [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2012. – 58, № 2. – С. 59-65.

8. Манько А.М. Корекція мультипробіотиком «Симбітер ацидофільний» оксидативного стресу в органах порожнини рота за умов тривалого застосування інгібіторів протонної помпи / А.М. Манько, А.А. Сухомлин // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2011. – Т. 11, №2. – С. 59-61.

9. Слюнные железы (биохимия, физиология, клинические аспекты) / [Л.М. Тарасенко, Г.А. Суханова, В.П. Мищенко и др.]. – Томск : Издательство НТЛ, 2002. – 124 с.

10. Уголев А.М. Исследование пищеварительного аппарата у человека / А.М. Уголев, Н.Н. Иезуитова, У.Г. Масевич. – Л.: Наука, 1969. – 216 с.

11. Фалалеева Т.М. Влияние глипролинов на структурно-функциональное состояние слизистой оболочки желудка и массу тела крыс в условиях длительного введения глутамата натрия / Т.М. Фалалеева, Г.Е. Самонина, Т.В. Береговая [и др.] // Физика живого. – 2010. – Т. 18, №1. – С. 154-159.

12. He K. Association of monosodium glutamate intake with overweight in Chinese adults: the INTERMAP Study / K. He, L. Zhao, M.L. Daviglus [et al.] // Obesity. – 2008. – V. 16, №8. – P. 1875-1880.

13. Hopps E. Protein oxidation in metabolic syndrome / E. Hopps, G. Caimi // Clin Invest Med. – 2013. – V. 36, №1. – P. 1-8.

14. Modeer T. Association between obesity, flow rate of saliva, and dental caries in adolescents / T. Modeer, C.C. Blomberg, B.Wondimu [et al.] // Obesity. – 2010. – V. 18, №12. – P. 2367-2373.

15. Vincent H.K. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans / H.K. Vincent, A.G. Taylor // International Journal of Obesity. – 2006. – V. 30, № 3. – P. 400-418.

Реферат

ПРОТЕИНАЗНО-ИНГИБИТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И СВОБОДНО – РАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ТКАНЯХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС В УСЛОВИЯХ ГЛУТАМАТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ОЖИРЕНИЯ

Гордиенко Л.П.

Ключевые слова: слюнные железы, ожирение, глутамат натрия, протеиназно-ингибиторный потенциал, оксидативный стресс.

В условиях моделирования глутамат-индуцированного ожирения возникают патологические изменения в тканях слюнных желез крыс: дисбаланс протеиназно-ингибиторного потенциала, активация свободно-радикального окисления и развитие оксидативного стресса, что сопровождается эндотоксемией.

Summary

PROTEINASE-INHIBITOR BALANCE AND FREE RADICAL PROCESSES IN RATS' SALIVARY GLAND TISSUES UNDER MONOSODIUM GLUTAMATE-INDUCED OBESITY

Gordienko L.P.

Key words: salivary glands, obesity, monosodium glutamate, proteinase-inhibitor imbalance, oxidative stress.

Introduction: Obesity is currently regarded as pandemic. According to the data of World Health Organization there are more than a billion overweight people on the planet. Low levels of daily physical activity combined with intake of food with excess calories, as well as extensive and uncontrolled use in food industry of food additives, primarily of monosodium glutamate, favor an increase in adiposity.

According to the literature, obesity and pathologies associated with it can lead to decreased functioning of cells of salivary glands, reduced saliva flow, increased viscosity of saliva, development of xerostomia. Impaired functioning of salivary glands leads to the development of pathological processes in the oral cavity, increases danger of tooth decay and periodontal disease development, causes a disturbance of the digestive processes in other parts of the gastrointestinal tract. However, pathological mechanisms involved in the impact of obesity on salivary glands are not fully established.

Objective: The aim of the study was to determine the proteinase-inhibitor balance and free radical processes in the tissues of rats' salivary glands under monosodium glutamate-induced obesity.

Materials and Methods: The study was carried on 20 rats. We modeled monosodium glutamate-induced obesity in rats. The rats were divided into 2 groups at the beginning of the experiment. I group included intact animals for control. Newborn rats of II group were administered monosodium glutamate (4 mg/g) on the 2, 4, 6, 8, 10 days of life. After 4 months of experiment animals were determined body mass index (BMI). In the homogenate of rats' salivary glands we determined the proteinase inhibitory potential by determining the activity of proteinases and total antitryptic activity, the content of oxidatively modified proteins and middle molecules.

Results: It was established that BMI of rats of II group significantly increased in 1,21 times compared with the control group. Thus, the rats of II group were observed to demonstrate significant increase of BMI compared with the control group that indicated on the development of obesity. It was found that there was reliable increasing of total proteolytic activity in 1,32 times in the tissues of salivary glands of rats under monosodium glutamate-induced obesity compared with the control group. Under these conditions there was reliable decreasing in 1,24 times the total antitryptic activity compared with the control group. It was established that there was reliable increasing of oxidatively modified proteins in 1,44 times in the tissues of salivary glands of rats under monosodium glutamate-induced obesity compared with the control group. Under these conditions there is reliable increasing of middle molecules in 1,41 times compared with the control group.

Conclusions: Thus, under modeled monosodium glutamate-induced obesity the pathological changes in rats' salivary gland tissues are manifested by the development of proteinase-inhibitor imbalance, activation of free radical processes and the development of oxidative stress and endotoxemia.