

ЗМІНИ ОКИСНОГО МЕТАБОЛІЗМУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЕЗОФАГІТУ НА ТЛІ ГІПОТИРЕОЇДНОГО ДИСТГМЕОСТАЗУ ТА КОРЕКЦІЇ МЕЛАТОНІНОМ

Р.О. Піняжко, М.Р. Гжегоцький

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
Кафедра нормальної фізіології (зав. - проф. М.Р. Гжегоцький)

Реферат

Досліджували вміст метаболітів анаеробного та аеробного гліколізу, циклу оксиду азоту, продуктів ліпопероксидації у крові та тканині слизової оболонки стравоходу (СОС) білих щурів при моделюванні езофагіту на тлі гіпотиреоїдної дисфункції та корекції мелатоніном. Підтверджено цитопротекторний ефект мелатоніну стосовно тканин СОС, який виявлявся відновленням окисного аеробного метаболізму, вільнорадикального гомеостазу та модифікацією процесів у циклі системи оксиду азоту.

Ключові слова: слизова оболонка стравоходу, езофагіт, гіпотиреоз, окисний метаболізм, мелатонін, цитопротекція.

Abstract

OXIDATIVE METABOLISM CHANGES IN EXPERIMENTAL ESOPHAGITIS WITH HYPOTHYROID DYSFUNCTION AND MELATONIN CORRECTION

R.O. PINYAZHKO, M.R. GRZEGOTSKY

The Danylo Halytsky Lviv National Medical University

This study assessed aerobic and anaerobic metabolites, the NO-cycle, and lipoperoxidation products in the blood and tissue of the oesophageal mucosa in a white rat model of esophagitis with hypothyroid dysfunction and melatonin correction. Melatonin was shown to have a cytoprotective effect with respect to the oesophageal mucosa, likely related to recovery of oxidative aerobic metabolism, free radical homeostasis, and moderating processes of the NO-cycle system.

Key words: oesophageal mucosa, esophagitis, oxidative metabolism, melatonin, cytoprotection

Вступ

Відомо, що характер адаптаційної відповіді визначається відповідністю сили подразника до потенційних можливостей різного рівня пристосувальних реакцій, що лімітують поширення патологічного процесу та забезпечують структурно-метаболічну основу репараторно-відновних перетворень [1, 6]. Універсальною ланкою успішного регенерації за дії ульцерогенних чинників вважається активність енергоутворення, що у значній мірі залежить від характеру клітинного окисного метаболізму, зокрема від спів-

відношення про- та антиокислювальних процесів, аеробного та анаеробного метаболізму, модуляції перетворень у системі оксиду азоту [5, 8]. Важливою регуляторною ланкою, що на рівні організму забезпечує стійку довготермінову адаптацію, є тиреоїдний статус, оскільки гормони щитоподібної залози можуть бути модуляторами структурно-метаболічного тла, визначаючи активність основного обміну та потенціацію білкового синтезу і репараційних процесів [2, 10]. Таким чином, оптимальна взаємодія складних регуляторних системних та локальних механізмів, у відповідності до адаптивної спроможності організму, забезпечує можливість збереження цілісності певної популяції клітини або контролює зміну їх життєвого циклу у спосіб апоптозу чи некрозу, в цілому визначаючи баланс деструктивних та відновних процесів за дії різної природи екстремальних чинників.

У літературі існують повідомлення, які доводять взаємозв'язок дисфункції щитоподібної залози зі змінами потужності відновних процесів у слизовій оболонці шлунка, хоча такі публікації не завжди однозначні [9, 10]. Попри це практично не досліджено, яким чином позначається гіпотиреоз на ульцерогенезі слизової оболонки стравоходу (СОС), хоча відома поліморбідність проявів дисфункції щитоподібної залози, що стосується і патологій шлунково-кишкового тракту [3, 10]. Обґрунтування потребує також застосування мелатоніну як можливого цитопротекторного засобу стосовно СОС за умов поєднання різної природи стресорних впливів, зважаючи на широкий спектр його імуномодуючих, антиоксидантних та цитопротекторних ефектів, зафіксованих багатьма дослідниками [9, 11, 22].

Метою нашого дослідження було вивчення метаболічних параметрів, які характеризують стан лімітуючих систем окисного обміну за умов експериментального езофагіту на тлі гіпотиреозу з метою виявлення найбільш уразливих ланок

метаболізму та обґрунтування вибору адекватних методів для підвищення цитопротекторних властивостей СОС.

Матеріал і методи

Для контролю характеру обмінних змін у СОС нами проводилось дослідження вмісту метаболітів аеробного та анаеробного гліколізу (молочної та піровиноградної кислот) [18, 20], одного з метаболітів ліпопероксидації (ТБК-активних продуктів) [16], концентрації нітрит-іонів [19] як метаболіту циклу азоту у тканині СОС та крові самців за умов моделювання езофагіту, експериментального гіпертиреозу, поєднаної їх дії та корекції кожної з груп мелатоніном. Дослідження проводились на 80 статевозрілих щурах-самцях з дотриманням нормативів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для наукових цілей. Першій дослідній групі впродовж 7 днів індукували експериментальний езофагіт шляхом введення методом зовнішньої перфузії кислотно-пепсинової суміші. Гіпотиреоїдну дисфункцію моделювали введенням тиреостатичного препарату мерказолілу впродовж 28 днів (у дозі 16 мг/кг) (друга група). У третій дослідній групі на тлі гіпотиреозу індукували езофагіт. У межах кожної з вище зазначених дослідних серій була підгрупа, якій на тлі моделювання певної патології проводилась корекція мелатоніном (внутрішньоочередово у дозі 20 мг/кг/добу) [21]. Отримані результати підлягали варіаційно-статистичній обробці за t-критерієм Стюдента.

Результати й обговорення

Відомо, що пригнічення основного обміну, влас-

тине для гіпотиреозу, у значній мірі зсуває баланс у системі енергоутворення у бік анаеробного метаболізму. Критерієм цього може слугувати концентрація та співвідношення метаболітів аеробного та анаеробного гліколізу - молочної та піровиноградної кислот, міра підвищення вмісту яких може інформувати і про ступінь гіпоксичного ураження відповідних тканин [18, 20]. Проведені нами дослідження свідчать, що для експериментального гіпотиреозу властива висока вірогідність зростання вмісту цих метаболітів особливо у СОС (табл. 1), що доводить залежність окисного метаболізму у цій тканині від тиреоїдного гомеостазу. Зокрема, у СОС концентрація лактату перевищує норму на 140,8%, пірувату - на 20,5%. У крові міра вираженості цих процесів є значно нижчою.

При езофагіті збільшення концентрації лактату у крові та СОС становило 32,5% та 37,2%, відповідно. Спільним для обох дослідних груп є зростання коефіцієнту лактат/піруват у СОС, хоча ступінь вираженості його при гіпотиреозі є істотно вищим. При гіпотиреоїдній дисфункції значення коефіцієнту збільшується майже вдвічі, при езофагіті - на 36% проти норми.

Поєднана дія цих чинників виявляється зростанням концентрації продуктів гліколізу, особливо молочної кислоти, що при цьому не має характеру сумачії. У крові вірогідне підвищення цього метаболіту становило 25%, у СОС - 24% стосовно контрольної групи.

Важливо зазначити, що зміни кисеньзалежного метаболізму у СОС різних дослідних серій, які свідчать про пригнічення аеробного клітинного обміну, корелюють з представленими

Таблиця 1

Зміни вмісту молочної та піровиноградної кислот у СОС за умов експериментального езофагіту на тлі гіпотиреозу та корекції мелатоніном ($M \pm m$, $n=6$)

Експериментальні групи	Молочна кислота (ммоль/г)	Піровиноградна кислота (ммоль/г)	Лактат/піруват
Контроль	2,18±0,14	0,117±0,010*	19,2±1,14*
Гіпотиреоз(I)	5,25±0,28*	0,141±0,013*	37,2±2,53*
Езофагіт(II)	2,99±0,21*	0,126±0,013	26,1±2,3*
Езофагіт+Гіпотиреоз(III)	2,70±0,14*	0,132±0,020*	20,4±2,080
Гіпотиреоз +Мелатонін(IV)	1,48±0,15*•	0,183±0,12*•	8,1±0,61*•
Езофагіт+ мелатонін(V)	2,61±0,14*	0,134±0,007*	19,5±3,4*•
Езофагіт гіпотиреоз мелатонін (VI)	2,50±0,12•	0,155±0,013*	16,1±3,3

* - вірогідність ($p<0,05$) відносно контролю, • - вірогідність ($p<0,05$) відносно відповідних груп без застосування мелатоніну (IV - проти II, V - проти III, VI - проти III)

нами раніше ультраструктурними змінами, особливо зі зміною цитоархітекτονіки мітохондріальних структур, які зафіксовані електронно-мікроскопічними дослідженнями [13]. Деструктивно-дистрофічні зміни у СОС, що з найбільшою мірою вірогідності виявлені при поєднаній дії гіпотиреозу та езофагіту, стосовно мітохондрій виявлялись зміною їх якості та кількості, порушенням їх структурованості, зміною крист і зі свого боку вказують на стан деенергізації, що своєю чергою може звужувати діапазон адаптаційно-приспосувальних реакцій організму. При цьому глибоке порушення процесів окиснення та синтезу АТФ в мітохондріальних структурах, як наслідок розвитку гіпоксичних станів, не лише пригнічує ефективність відновних процесів, але вважається одним із пускових механізмів, що визначає модифікацію клітинного циклу відповідного типу клітин за дії різної природи екстремальних чинників. Відома участь мітохондрій як основного джерела активних форм кисню, ініціації вільнорадикальних перетворень та про- і антиапоптичних факторів [15, 17].

Представлені нами у попередніх публікаціях результати досліджень свідчать, що за умов використаної нами моделі експериментального езофагіту як і за гіпофункції щитоподібної залози спостерігається значна апоптоз-специфічна міжнуклеосомна деградація ДНК [12]. Практично у всіх особин із проаналізованої загальної популяції тварин з експериментальним езофагітом загибель епітелійних клітин стравоходу відбувалась як шляхом апоптозу, так і у спосіб некрозу. Розвиток езофагіту на тлі гіпотиреозу істотно збільшував ступінь дистрофічно-деструктивних процесів, що виявлялось підвищенням відсотку некротично змінених клітин СОС

і обґрунтовує необхідність участі тиреоїдних гормонів для успішної репарації у тканині СОС.

Зниження потужності аеробних енергопродукуючих систем, у значній мірі, може бути пов'язане з активацією оксигеназних реакцій із залученням вільнорадикальних пероксидних перетворень. Рівень ТБК-АП у крові та тканині СОС всіх дослідних груп (табл. 2), як і концентрація нітрит-іонів [13], вірогідно перевищували значення контрольної групи. Найвищі значення ТБК-АП зафіксовані нами у групі з поєднаним гіпотиреозом та езофагітом. Відповідно у крові та СОС вони становили 167,4% та 199% стосовно норми (100%), що за умов пригнічення аеробного метаболізму, як однієї з найбільш потужних систем антиоксидантного захисту, може виявлятися зсувом балансу між відновними та катаболічними процесами у бік переважання дистрофічно-деструктивних реакцій. Вірогідне підвищення концентрації нітрит-іонів у СОС всіх дослідних груп, однозначно свідчить про залучення цих метаболітів до регуляції вільнорадикального гомеостазу та доводить роль перетворень у циклі оксиду азоту як важливої локальної антистресорної системи у цій тканині. Таким чином, отримані нами результати стосовно змін процесів у системі вільнорадикальних реакцій у тканині СОС не суперечать універсальним поглядам, які зниження тла аеробного метаболізму пов'язують зі зміною вільнорадикального гомеостазу. Це стосується як процесів ліпопероксидації так і модифікації перебігу процесів у системі оксиду азоту, який є важливим паракринним регулятором фізіологічного статусу у системі травлення [13, 22].

При введенні мелатоніну найбільш виражений ефект стосувався групи з експеримен-

Таблиця 2

Зміни вмісту ТБК-АП у крові та тканині СОС за умов експериментального езофагіту на тлі гіпотиреозу та корекції мелатоніном ($M \pm t$, $n=6$)

Експериментальні групи	ТБК-АП у крові (мкмоль/л)	ТБК-АП у СОС (мкмоль/г)
Контроль	111,54 \pm 10,14	241,17 \pm 18,10
Гіпотиреоз(I)	165,25 \pm 10,28*	420,20 \pm 36,03*
Езофагіт(II)	145,65 \pm 16,21*	346,56 \pm 23,34*
Езофагіт+ Гіпотиреоз(III)	186,70 \pm 18,14*	460,28 \pm 32,20*
Гіпотиреоз + Мелатонін(IV)	135,48 \pm 10,15*•	290,40 \pm 18,12*•
Езофагіт+ мелатонін(V)	127,21 \pm 13,43	249,67 \pm 21,53•
Езофагіт гіпотиреоз мелатонін (VI)	132,50 \pm 11,12•	310,40 \pm 29,13*•

* - вірогідність ($p < 0,05$) відносно контролю, • - вірогідність ($p < 0,05$) відносно відповідних груп без застосування мелатоніну (IV - проти II, V - проти III, VI - проти III)

тальним гіпотиреозом. Це виявлялось різким зниженням, щодо серії без корекції, вмісту молочної кислоти у СОС (у 3,5 рази), вірогідним підвищенням пірувату, що у сумарному ефекті зменшувало значення коефіцієнту лактат/піруват у 4,5 рази і свідчило про активацію аеробного метаболізму. У групі з езофагітом, поєднаним з гіпотиреозом, при застосуванні мелатоніну, аналогічно до попередньої серії, зафіксовано чітку тенденцію до зниження, проти відповідної дослідної серії, вмісту лактату, підвищення піровиноградної кислоти і зниження співвідношення лактат/піруват. Введення мелатоніну вірогідно знижувало вміст ТБК-АП та концентрацію нітритіонів, особливо у тканині СОС даної групи шурів.

На користь позитивного ефекту застосування мелатоніну свідчать і дані електронномікроскопічного ультраструктурного аналізу, згідно яких ефективність регенераційних процесів у СОС вірогідно вища стосовно дослідної групи без застосування коригуючого середника [23]. Свідченням цього можуть бути: універсальне у всіх досліджуваних групах відновлення цілісності та структурованості клітинних та субклітинних утворів епітелійного бар'єру слизової оболонки, зростання відсотку клітин, що перебували у апоптозі на тлі зменшення кількості некритично змінених клітин та зміщення типу розпаду клітин у спосіб апоптозу, зниження ступеня вираженості геморагічно-деструктивних процесів, ендотеліної дисфункції проти відповідних серій без застосування коригуючого чинника [12, 14].

Це відповідає даним літератури, якими акцентується увага на універсальній здатності мелатоніну знижувати ступінь вираженості тканинної гіпоксії, покращувати утилізацію продуктів ліпопероксидації, стимулювати NO-синтазу з наступною вазодилатацією і покращенням локального кровоплину. Водночас вони підтверджують дані літератури про участь метаболітів вільнорадикальних реакцій у регуляції синтезу і функціонування про- і антиапоптичних білків у відповідних тканинах [7].

До обговорення отриманих даних цікавим доповненням можуть бути отримані Бондаренком та співав. Результати, що свідчать про можливість відновлення гормональної активності щитоподібної залози без залучення тиреотропної функції гіпофіза при віковому гіпотиреозі при курсовому введенні фізіологічних доз мелатоніну [4].

Тим самим доводиться модифікація взаємодій між різними ендокринними системами за різних екстремальних умов, оскільки загально прийнятим вважається, що щитоподібна залоза та епіфіз взаємодіють за принципом від'ємного зворотного зв'язку.

Висновок

Отримані нами дані стосовно специфіки змін процесів кисеньзалежного метаболізму у тканині СОС доводять істотне пригнічення потенційних можливостей цитопротекторних стрес-лімітуючих систем СОС на тлі зниження контролю з боку тиреоїдних гормонів. Водночас доведено позитивний ефект застосування мелатоніну як цитопротекторного засобу при формуванні нерозвиваних уражень СОС при гіпотиреозному дисгомеостазі, що, вочевидь, пов'язане з універсальною здатністю мелатоніну оптимізувати взаєморегуляцію у системі мембранозалежного клітинного окисного гомеостазу, забезпечуючи відновлення аеробної енергопродукції, вільнорадикального гомеостазу, балансу у системі протиантиоксидантних процесів, а тим самим, структурно-метаболічну основу адекватної регенерації у слизовій оболонці стравоходу.

Література

1. Оценка адаптационных возможностей организма и проблемы восстановительной медицины / Р.М.Баевский, А.Л.Сыркин, А.Д.Ибатов и др. // Вестник восстановительной медицины. - 2004. - № 2. - С. 18-22.
2. Безштанько М.А., Городенко Л.К. Ультраструктурні особливості парієнтальних клітин залоз тіла шлунка тиреоїдектомованих шурів, лікованих L-тироксинам / / Здобутки клінічної і експериментальної медицини. - 2009. - №2. - С.29 - 31.
3. Біловол О.М., Баранов І.В. Стан слизової оболонки шлунка і як він позначається на симптоматиці пептичної виразки, поєднаної з первинним гіпотиреозом на тлі аутоімунного тиреоїдиту // Сучасна гастроентерологія. - 2008. - № 5(43). - С. 24- 27.
4. Бондаренко Л.А., Геворкян А.Р. Влияние курсового введения мелатонина на гормональную активность гипотизарно-тиреоидной системы у старых крыс с возрастным гипотиреозом // Буковинський медичний вісник. - 2009. - Т.13, №4. - С.38 - 40.
5. Кобилінська Л.І., Тимочко М.Ф. Роль прооксидантно-антиоксидантного балансу в адаптаційних процесах організму // Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. - 2000. - № 4. - С. 52 - 58.

6. Кононов А.В. Цитопротекция слизистой оболочки желудка: молекулярно-клеточные механизмы // Российский журнал гастроэнтерологии и колопроктологии. - 2006. - №3. - С. 13-16.
7. Кравченко О.О.Максимович Я.С., Мандрик Я.С.Дробінська О.В., Остапенко Л.І. Активність NO-синтази та вміст апоптичних білків в епітеліюцитах слизової оболонки товстої кишки щурів у динаміці розвитку колітасоційованого канцерогенезу. - Медична хімія. - Т.11, № 3. - 2009. - С.120 - 122.
8. Лебкова Н.П. Современные представления о внутриклеточных механизмах обеспечения энергетического гомеостаза в норме и при патологии // Вестник Рос. АН. - 2000. - № 9. - С. 16 - 21.
9. Маковійчук А.А., Мешишен І.Ф., Пашковська Н.В.Вплив лінексу та біоспорину на про- та антиоксидантний статус крові і тканин шлунково-кишкового тракту щурів за умов гіпертиреозу // Ендокринологія. - 2004.- Т.9, № 1. - С.65-69.
10. Мельник О.І., Гжегоцький М.Р., Терлецька О.І., Ковалишин В.І. Структурно-функціональні зміни слизової оболонки шлунка, за умов впливу малих доз іонізуючого випромінювання на тлі гіпотиреозу та їх корекції олією амаранту // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія.-2002.-№3.-с.53-60
11. Опарин А.А. Влияние препарата мелатонина мелаксен на функцию эндотелия при дуоденальной язве, ассоциированной с *Helicobacter Pylori* / Опарин А.А. // Сучасні проблеми медицини. - 2009. - № 3. - С. 31-33.
12. Піняжко Р.О. Активність апоптозу клітин слизової оболонки стравоходу за умов експериментального езофагіту та корекції його мелатоніном //Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. - 2010.-№3.-С. 45-48.
13. Піняжко Р.О., Паніна Л.В., Заячківська О. С., Гжегоцький М.Р., NO-залежний стрес та резистентність епітеліального бар'єру слизової оболонки стравоходу за умов експериментальних неерозивних ушкоджень.- 2009.-№2.-с.59-63.
14. Піняжко Р.О., Ковалишин В.І., Заячківська О.С., Гжегоцький М.Р. Функціональна реорганізація епітеліального бар'єру слизової оболонки стравоходу за умов експериментальної гіпергастринемії// Експеримент.та клінічна фізіологія та біохімія. - 2008. - № 4. - С. 24 -31.
15. Тканиноспецифічність морфологічних проявів апоптозу / Л.О.Стеченко, Т.П.Куфтирева, В.А.Петренко та ін. // Таврический медико-биологический вестник. - 2006. - Т.9, №3. - С.191 - 194.
16. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. - 1981. - № 4. - С. 209 - 211.
17. Фильченков А.А., Стойка Р.С. Апоптоз и рак. - К.:Морион,1999. - 184 с.
18. Bucher I., Czok R., Lamprecht W. et. al. Pyruvate Determination with Lactic Dehydrogenase // Methods of Enzymatic Analysis. Ed. by H.U.Bergmeyer. N.Y. and London. - 1965. - P. 253 - 259.
19. Green L.C., Wagner D.A., Glogovski J.G. Analysis of nitrate, nitrite and ¹⁵N-nitrate in biological fluids // Anal. Biochem.-1982.-№1.-P.-131-138.
20. Honorst H.J. (+) Lactate, Determination with Lactic Dehydrogenase and DPN // Methods of Enzymatic Analysis Ed. by H.U. Bergmeyer N.Y. and London. -1965. - P. 266 - 270.
21. Konturek SJ .Protective influence of melatonin against acute esophageal lesions involves prostaglandins, nitric oxide and sensory nerves./Konturek SJ, Zayachkivska O., Havryluk XO., Brzozowski T., Sliwowski Z., Pawlik M.,
22. Konturek SJ .Protective influence of melatonin against acute esophageal lesions involves prostaglandins, nitric oxide and sensory nerves./Konturek SJ, Zayachkivska O., Havryluk XO., Brzozowski T., Sliwowski Z. Konturek PC., Czesnikiewicz-Guzik M., Gzhegotsky MR., Pawlik W/W. / J Physiol Pharmacol. - 2007. - №58. - P. 361-77.120.
23. Pinyazhko R. Cytoprotective influence of melatonin on the morpho-functional integrity of the epithelial barrier of esophageal mucous membrane under conditions of experimental hypergastrinemia./Pinyazhko R., Kovalyshyn V., Zayachkivska O., Grzegotsky M.//Bridges in Life Sciences Annual Scientific Review/-2009.-P.-146.