

УДК 612.323+612.321+612.326.6+612.819.913

О.А. ГРІНЧЕНКО, Л.Я. ШТАНОВА, З.А. ГОРЕНКО, В.М. БАБАН,
В.А. БАРАНОВСЬКИЙ, С.П. ВЕСЕЛЬСЬКИЙ, П.І. ЯНЧУК

НДІ фізіології імені академіка Петра Богача ННЦ «Інститут біології» КНУ імені Тараса Шевченка
вул.Володимирська, 64/13, МСП 601. м. Київ-601

СПЕКТР ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ ШЛУНКОВОГО СОКУ ВПРОДОВЖ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНІЧНОГО АЛКОГОЛЬНОГО ПАНКРЕАТИТУ ТА ПІСЛЯ ЙОГО КОРЕКЦІЇ ТАУРИНОМ

У хронічних дослідках на ненаркотизованих щурах методом аспірації досліджували шлункову секрецію та біохімічний склад шлункового соку впродовж розвитку експериментального хронічного алкогольного панкреатиту та після корекції патології таурином. Хронічний алкогольний панкреатит у щурів моделювали шляхом споживання тваринами 20% розчину етанолу в якості єдиного джерела пиття впродовж 14 тижнів. Після закінчення терміну алкоголізації прийом етанолу відміняли і впродовж двох тижнів внутрішньошлунково вводили таурин із розрахунку 7 мг/кг. Встановлено, що впродовж розвитку панкреатиту кислотність шлункового вмісту значно підвищувалась, а секреція слизу зменшувалась. У шлунковому соку сумарна концентрація вільних амінокислот, як і індивідуальні рівні більшості з них, у тварин із патологією зменшувались, проте концентрації лейцину, ізолейцину, фенілаланіну та триптофану збільшувались. Таурин відновлював секреторну функцію шлунка щурів із алкогольним панкреатитом, нормалізуючи рівні соляної кислоти, слизу та більшості вільних амінокислот у шлунковому соку.

Ключові слова: шлункова секреція, вільні амінокислоти, панкреатит, алкоголь, таурин

Одним із механізмів розвитку панкреатиту за надмірного споживання алкоголю є порушення секреторної функції шлунка. Етанол при пероральному застосуванні посилює стимульовану шлункову секрецію [1]. Тривале введення алкоголю у харчовий раціон тварин призводить до істотного збільшення у слизовій оболонці шлунка кількості кислотопродукуючих клітин та їх патологічних змін, зокрема гіпертрофії та пошкодження структури мітохондрій, гіперплазії та сплюснення везикул секреторного тубулярного апарату [2]. Внаслідок таких змін секреція соляної кислоти посилюється. Підвищення кислотності шлункового соку призводить до ацидифікації вмісту дванадцятипалої кишки і вивільнення стимуляторів зовнішньосекреторної діяльності підшлункової залози – секретину і холецистокініну [1,3]. Під впливом алкоголю змінюється якісний склад панкреатичного соку, в якому міститься надлишкова кількість білка та відмічається низька концентрація бікарбонатів [4]. Білкові преципітати випадають у вигляді пробок, які обтурують панкреатичні протоки, або кальцифікуються, посилюючи гіпертензію [5,6]. Разом з цим етанол викликає спазм сфінктера Одді, що призводить до значного підвищення базального тиску в головному панкреатичному протоку і утруднення відтоку панкреатичного секрету [7]. Припускається, що в ньому у людей, які зловживають алкоголем, підвищено співвідношення трипсиногену до інгібіторів трипсину, що може викликати внутрішньопотокову активацію ферментів [1]. Гіперсекреція соляної кислоти призводить до інактивації ферментів у просвіті дванадцятипалої та порожньої кишок і є основною причиною розвитку вторинної екзокринної недостатності підшлункової залози [1]. Таким чином, функціонування шлунка і підшлункової залози тісно взаємопов'язані, проте з'ясуванню функціонального стану шлунка при хронічному панкреатиті присвячені лише поодинокі роботи [8,9].

Метаболічний профіль біорідин, в тому числі і шлункового соку, за умов патології відрізняється від такого в нормі [10]. Так, у пацієнтів з пептичною виразкою, хронічним гастритом та карциномою збільшується сумарна концентрація вільних амінокислот в шлунковому соку [11]. Підвищення рівня ароматичних амінокислот, зокрема тирозину, фенілаланіну та триптофану, в шлунковому соку вказує на малігнізацію тканин шлунка, а ці амінокислоти є біомаркерами для діагностики прихованого злоякісного переродження відповідних тканин [12,13]. Амінокислоти

безпосередньо впливають на секрецію соляної кислоти та ферментів, а також тканинних гормонів соматостатину і холецистокініну, які регулюють секрецію залоз шлунка і підшлункової залози [14,15]. Алкоголь, контактуючи зі слизовою оболонкою органів травного тракту, викликає в них численні метаболічні та функціональні зміни, які супроводжуються змінами біохімічного складу травних соків.

Таурин (2-аміноетансульфонова кислота) міститься в організмі людини у достатньо великій кількості і задіяний у багатьох фізіологічних процесах. Він відіграє важливу роль у кон'югації жовчних кислот, процесах детоксикації, стабілізації мембран, осморегуляції, гомеостазі кальцію, нейротрансмісії тощо [16]. Таурин здатний покращувати функціональний стан тканин органів травлення за умов оксидативного стресу [16,17], викликаного токсичними речовинами, зокрема етанолом [18].

Ми дослідили шлункову секрецію та зміни спектру вільних амінокислот шлункового соку впродовж розвитку експериментального хронічного алкогольного панкреатиту та після корекції функціонального стану органів травлення таурином.

Матеріали і методи досліджень

Хронічні досліді проведені на самках білих лабораторних щурів вихідною масою 170-200 г. Тварини знаходилися на звичайному харчовому раціоні віварію, а перед дослідом голодували (24 год) з вільним доступом до води. Хронічний алкогольний панкреатит у щурів моделювали шляхом споживання тваринами 20% розчину етанолу в якості єдиного джерела пиття впродовж 14 тижнів [19]. Після закінчення терміну алкоголізації прийом етанолу відміняли і впродовж двох тижнів внутрішньошлунково вводили таурин із розрахунку 7 мг/кг маси тіла. Тварин брали в дослід через добу після останнього споживання етанолу або введення амінокислоти. Щури контрольної групи споживали водопровідну воду без обмежень.

Дослідження змін шлункової секреції у щурів впродовж розвитку хронічного алкогольного панкреатиту та після застосування таурину здійснювали методом аспірації [20] на одних і тих самих не наркотизованих тваринах через чотири, вісім і дванадцять тижнів від початку алкоголізації, а також після закінчення курсу введення амінокислоти. Шлунковий вміст отримували за допомогою тонкого металевого зонду, через який у шлунок тварин вводили 2 мл дистильованої води і відразу, не виймаючи зонда, ним відбирали вміст шлунка разом із введеною рідиною. В аспіраті вимірювали концентрації соляної кислоти (шляхом титрування шлункового вмісту 0,01 Н розчином NaOH в присутності індикатора – 0,5%-вого спиртового розчину диметиламіноазобензолу; ммоль/л), загального білка (спектрофотометрично; мкг/мл) [21], гексозамінів та фракцій вільних амінокислот, розділених за допомогою хроматографічного методу та кількісно визначених денситометром ДО-1М (мг%) [22].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакету прикладних програм Statistica 6.0, використовуючи критерій t Стьюдента, оскільки вони мали нормальний розподіл при перевірці їх за тестом Шапіро–Уїлка. Статистично значущими вважали відмінності між контролем і дослідом при $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Впродовж розвитку експериментального хронічного алкогольного панкреатиту змінювався біохімічний склад шлункового соку. Через 4 тижні споживання етанолу базальна кислотність шлунка підвищувалась на 75% ($P < 0,05$) (табл. 1). При цьому рівні гексозамінів та загального білка в секреті вірогідно не відрізнялись від контролю. Отже, у щурів при обстеженні на цьому етапі спостерігалось посилення функції парієтальних клітин при збереженні активності додаткових і поверхнево-епітеліальних та, ймовірно, головних клітин слизової оболонки шлунка.

Таблиця 1

Концентрації складових шлункового соку голодних щурів впродовж розвитку експериментального хронічного алкогольного панкреатиту та після корекції патології таурином ($M \pm m$)

Показник	Серія дослідів				
	Контроль n=19	Етанол			Етанол+ таурин n=9
		4 тижні n=22	8 тижнів n=22	12 тижнів n=24	
Соляна кислота, ммоль/л	1,66±0,33	2,9±0,34*	4,23±0,45***	3,81±0,37***	1,77±0,42†
Загальний білок, мкг/мл	22,64±2,78	19,82±1,37	20,55±3,73	26,8±4,76 (n=16)	32,6±7,34†††

				111,25±9,83*** (n=8)	
Гексозаміни, мг%	4,42±0,32	5,03±0,33	3,5±0,22*	3,05±0,27**	5,12±0,39†††

Примітки. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ щодо контролю; † - $p < 0,05$; ††† - $p < 0,001$ щодо серії етанол 12 тижнів; n – кількість тварин із групи

На даному етапі розвитку алкогольного панкреатиту змінювалось співвідношення амінокислот та їх похідних у шлунковому соку (табл.2). Найбільше змінювалася концентрація валіну і тирозину, зменшуючись на 70% ($P < 0,001$). При цьому концентрації інших амінокислот із розгалуженими вуглецевими ланцюгами (АРВЛ) лейцину та ізолейцину, а також ароматичних амінокислот фенілаланіну та триптофану коливались навколо контрольних значень. Дисбаланс амінокислот у фізіологічних рідинах, як і тканинах, може свідчити про порушення функціонування печінки, оскільки вона є основним місцем метаболізму амінокислот. Гепатобіліарна патологія характеризується значними порушеннями проміжного обміну і зміною рівнів вільних амінокислот, особливо ароматичних, а також АРВЛ і сірковмісних. Зниження концентрації валіну при панкреатиті може бути зумовлене активацією його утилізації для забезпечення енергетичних потреб організму, що свідчить про зниження активності процесів окиснення інших субстратів. При патології печінки знижується швидкість гідроксилювання фенілаланіну і перетворення його в тирозин.

Через 4 тижні споживання етанолу у щурів знижувався рівень тирозину в шлунковому соку, що призводило до зростання коефіцієнта гідроксилювання (співвідношення фенілаланін/тирозин), що може вказувати на порушення функціонування печінки внаслідок її ураження. Відбувався перерозподіл у спектрі сірковмісних амінокислот. Концентрація цистеїну і цистину значно зростала, перевищуючи контрольні значення на 33% ($P < 0,05$). При цьому рівень серину залишався незмінним, а метіоніну був нижчим, ніж у контролі на 29% ($P < 0,01$). Концентрація таурину в шлунковому соку при цьому не змінювалася, що свідчить про сповільнення деградації цистеїну. Надлишок цистеїну і цистину міг використовуватись для синтезу як структурних, так і не структурних білків. Концентрація загального білка в секреті в цих дослідах не змінювалася, проте збільшувалася концентрація гліцину на 39% ($P < 0,01$). Ці зміни у поєднанні зі зниженням рівня валіну свідчать про зростання коефіцієнту співвідношення гліцин/АРВЛ. Отже, імовірно, в клітинах слизової оболонки шлунка щурів, які 4 тижні пили алкоголь, посилюється синтез структурних білків.

В шлунковому соку дослідних тварин істотно зростав базальний рівень гістаміну (на 50%; $P < 0,001$), що може бути причиною підвищення кислотності шлунка голодних тварин. У секреті вірогідно збільшувались концентрації гліцину, аспарагіну та аспарагінової кислоти в середньому на 38-50% ($P < 0,01$), але на противагу цьому зменшувались концентрації орнітину, лізину, аргініну на 19% ($P < 0,05$), аланіну на 29% ($P < 0,01$), глутамінової кислоти та треоніну на 44% ($P < 0,001$) (табл.2).

Таблиця 2

Концентрації вільних амінокислот та їх похідних у шлунковому соку впродовж розвитку експериментального хронічного алкогольного панкреатиту та після лікування таурином (мг%; $M \pm m$)

Амінокислоти та їх похідні	Серія дослідів				
	Контроль n=9	Етанол			Етанол+ таурин n=9
		4 тижні n=14	8 тижнів n=22	12 тижнів n=24	
Цистеїн, цистин	0,3±0,03	0,4±0,03*	0,29±0,03	0,23±0,02*	0,35±0,03†††
Орнітин, лізин, аргінін	0,43±0,04	0,35±0,02*	0,26±0,02***	0,24±0,02***	0,29±0,02**
Таурин, серин, гістидин	0,34±0,02	0,39±0,02	0,3±0,02	0,16±0,01***	0,46±0,03†††***
Аспарагін, гістамін	0,04±0,01	0,06±0,003***	0,04±0,003	0,01±0,002***	0,05±0,01†††
Пролін, оксипролін	0,46±0,03	0,5±0,03	0,32±0,01***	0,19±0,01***	0,5±0,04†††
Гліцин, аспарагінова	0,7±0,06	0,97±0,05**	0,47±0,03***	0,34±0,02***	0,56±0,04†††

кислота					
Глутамінова кислота, треонін	0,9±0,07	0,5±0,03***	0,84±0,03	0,91±0,04	1,01±0,11
Аланін, метіонін	0,34±0,02	0,24±0,02**	0,44±0,02*	0,35±0,02	0,47±0,04††*
Валін, тирозин	0,2±0,03	0,06±0,01***	0,08±0,01***	0,03±0,004***	0,29±0,03†††*
Лейцин, фенілаланін	0,57±0,04	0,54±0,02	0,62±0,03	0,78±0,04**	0,39±0,04†††***
Ізолейцин, триптофан	0,39±0,04	0,44±0,02	0,45±0,03	0,63±0,04**	0,47±0,04†

Примітки. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ щодо контролю; † - $p < 0,05$; †† - $p < 0,01$; ††† - $p < 0,001$ щодо серії етанол 12 тижнів; n – кількість тварин із групи

Впродовж наступних чотирьох тижнів споживання етанолу рівень кислотності шлунка продовжував зростати і по закінченню восьмого тижня алкоголізації перевищував контрольні значення на 155% ($P < 0,001$) (табл.1). За таких умов концентрація загального білка, як і при попередньому вимірюванні, була у межах контрольних значень, а гексозамінів зменшувалась на 21% ($P < 0,05$). Таким чином, у щурів після восьми тижнів споживання розчину етилового спирту була істотно збільшена кислототвірна функція слизової оболонки шлунка, що супроводжувалося функціональною недостатністю додаткових і поверхнево-епітеліальних клітин зі збереженою активністю головних клітин слизової оболонки шлунка.

Сумарна концентрація амінокислот в шлунковому соку зменшувалась (табл. 2). Через 8 тижнів, як і через 4 тижні споживання алкоголю, залишався істотно зниженим рівень валіну і тирозину при відсутності статистично значущих змін концентрацій лейцину, ізолейцину, фенілаланіну та триптофану. Однак варто відзначити тенденції до збільшення міліграмвідсоткового вмісту останніх чотирьох перерахованих амінокислот. Цей дисбаланс фактично дублює картину, відтворену при попередньому обстеженні тварин з експериментальною патологією на більш ранній стадії. Але впродовж 5-8 тижнів алкоголізації напрямок змін рівня гліцину та аспарагінової кислоти в секреті від підвищення переходить до зниження на 33% ($P < 0,001$) щодо контролю. Із сірковмісних амінокислот змінювалась лише концентрація метіоніну, збільшуючись на 29% ($P < 0,05$). Аналогічно зростав рівень аланіну в шлунковому соку. Отже, можна припустити, що інтенсивність синтезу, а також надходження білків до тканин після 8 тижнів споживання етанолу у тварин були меншими ніж на ранньому етапі розвитку патології.

Концентрація орнітину, лізину і аргініну продовжувала зменшуватись на 5-8 тижнях розвитку алкогольного панкреатиту і була меншою ніж у контролі на 40% ($P < 0,001$). Імовірно, це призвело до зниження рівня проліну та оксипроліну на 30% ($P < 0,001$) (табл. 2).

Досліди показали, що через 12 тижнів споживання етанолу кислотність шлунка у тварин знижувалась на 10% порівняно із такою після 8 тижнів алкоголізації, проте залишалась істотно вищою, ніж у контролі (на 130%; $P < 0,001$) (табл.1). Зміни концентрації загального білка в соку при цьому були неоднозначними. Так, значення цього показника у 8 тварин (33% групи) істотно збільшувались, перевищуючи контрольні на 391% ($P < 0,001$), тоді як у 16 щурів (67% групи) статистично значущо не відрізнялись від контролю. Рівень гексозамінів впродовж 9-12 тижнів споживання алкоголю продовжував знижуватись і по закінченню 12 тижня був меншим щодо контролю на 31% ($P < 0,01$). Отже, у всіх тварин із хронічним алкогольним панкреатитом спостерігалась гіперсекреція соляної кислоти при функціональній недостатності додаткових і поверхнево-епітеліальних клітин слизової оболонки шлунка, що свідчить про порушення її захисної і бар'єрної функцій та підвищення імовірності ураження. Функція головних клітин, про яку судили за рівнем загального білка, була збережена в усіх щурів дослідної групи, але у третини з них секреція білків, у тому числі й протеолітичних ферментів, була підвищена.

Встановлено, що сумарна концентрація вільних амінокислот шлункового соку у тварин, які впродовж 12 тижнів споживали етанол, була на 17% ($P < 0,05$) меншою, ніж у контрольних ($4,67 \pm 0,17$ мг%) і становила $3,88 \pm 0,2$ мг%. Індивідуальні концентрації більшості вільних амінокислот у шлунковому соку щурів із алкогольним панкреатитом зменшувались щодо контролю, за винятком лейцину, ізолейцину, фенілаланіну та триптофану, міліграмвідсотковий вміст яких збільшувався, перевищуючи контрольні значення на 37-62% ($P < 0,01$) (табл.2). Поряд із підвищенням рівня фенілаланіну концентрація тирозину в секреті зменшувалась на 85% ($P < 0,001$) і досягала найнижчого рівня за всі 12 тижнів споживання етанолу. Ці результати свідчать про значне збільшення коефіцієнту гідроксилування фенілаланіну, яке на цьому етапі було

максимальним за весь час обстеження впродовж розвитку хронічного алкогольного панкреатиту, і, відповідно, про імовірність розвитку печінкової патології у обстежуваних тварин на фоні хронічного панкреатиту, викликаного алкоголем.

Концентрації сірковмісних амінокислот в шлунковому соку при алкогольному панкреатиті змінювались щодо таких впродовж розвитку патології і відрізнялись від контрольних за винятком метіоніну, рівень якого після 4 тижнів алкоголізації знижувався, а після 8 тижнів пропорційно підвищувався щодо контролю, тоді як по закінченню 12 тижня споживання етанолу стабілізувався, коливаючись в межах контрольних значень. Концентрації інших амінокислот, які у своєму складі містять сірку, через 12 тижнів алкоголізації значущо зменшувались. Так, рівні цистеїну та цистину знизились на 23% ($P < 0,05$), серину і таурину на 53% ($P < 0,001$) щодо контролю (табл.2).

У щурів із хронічним алкогольним панкреатитом концентрації аргініну, лізину та орнітину зменшувались на 44% ($P < 0,001$), гістидину на 53% ($P < 0,001$), гістаміну та аспарагіну на 75% ($P < 0,001$), проліну та оксипроліну на 59% ($P < 0,001$), гліцину та аспарагінової кислоти на 51% ($P < 0,001$), валіну на 85% ($P < 0,001$). Зниження рівнів зазначених амінокислот, на відміну від похідних – аспарагіну і гістаміну, спостерігалось і після 8 тижня споживання етанолу, проте було менш вираженим (табл.2). Динаміка змін концентрації гістаміну в шлунковому секреті щурів впродовж розвитку панкреатиту свідчить про незалежність підвищення кислотності шлунка у голодних тварин на 5-12 тижнях алкоголізації від базального рівня наявного в шлунковому соку гістаміну.

Отже, за результатами нашого дослідження метаболічний профіль біорідин, зокрема шлункового соку, у тварин із хронічним алкогольним панкреатитом характеризується зменшенням сумарної концентрації вільних амінокислот. Останнє обумовлене зниженням індивідуальних рівнів більшості амінокислот, в тому числі валіну, тирозину, аспарагіну, гістаміну, проліну, оксипроліну, гліцину, аспарагінової кислоти, гістидину, таурину, серину, аргініну, лізину, орнітину, цистеїну та цистину. При цьому підвищувались рівні лейцину, ізoleyцину, фенілаланіну та триптофану, а також збільшувався коефіцієнт гідроксилювання фенілаланіну.

Результати наших досліджень показали, що після двотижневого застосування таурину у щурів із хронічним алкогольним панкреатитом знижувалась кислотність шлункового вмісту, повертаючись до відповідних значень у контролі (табл. 1). Концентрація загального білка при цьому в усіх тварин також статистично достовірно не відрізнялась від контролю, зменшуючись на 71% ($P < 0,001$) у 8 щурів (33% групи) щодо таких значень показника після 12 тижнів алкоголізації. Під впливом таурину відновлювався рівень гексозамінів у шлунковому соку, підвищуючись на 68% ($P < 0,001$) щодо такого при панкреатиті. Ці результати свідчать про відновлення нормального функціонального стану секреторного апарату шлунка, включаючи діяльність обкладових, головних та слизекретуючих клітин залозистого епітелію слизової оболонки шлунка.

Під впливом таурину сумарна концентрація вільних амінокислот у шлунковому соку збільшувалась на 26,8% ($P < 0,01$) щодо значень цього показника після закінчення 12 тижня споживання етанолу і значущо не відрізнялась від контролю (табл.2). При дії таурину змінювались індивідуальні рівні більшості амінокислот у секреті, а також співвідношення їх концентрацій у спектрі. Так, концентрації валіну і тирозину після двотижневого курсу введення таурину щурам із хронічним алкогольним панкреатитом збільшувались більше ніж у 9 разів і перевищували контрольні значення на 45% ($P < 0,05$). На протигагу цьому рівні фенілаланіну і лейцину знижувались на 50% ($P < 0,001$), триптофану і ізoleyцину на 25% ($P < 0,05$). Концентрації фенілаланіну і лейцину були меншими ніж у контролі на 32% ($P < 0,01$). Ці зміни призводили до зменшення співвідношення фенілаланін/тирозин, тобто коефіцієнту гідроксилювання фенілаланіну, який є індикатором катаболічного стану.

Під впливом таурину збільшувались концентрації всіх сірковмісних амінокислот у шлунковому соку (табл.2). Так, рівень цистеїну і цистину зріс на 52% ($P < 0,001$), метіоніну на 34% ($P < 0,01$), таурину та серину на 188% ($P < 0,001$). Таким чином концентрації цистеїну і цистину під впливом таурину відновлювались, а інших амінокислот збільшувались щодо контролю на 35-38% ($P < 0,05$).

Концентрації гістидину та гістаміну в шлунковому вмісті істотно, але не пропорційно, збільшувались, в результаті чого рівень гістидину вірогідно перевищував контрольний, а гістаміну коливався в його межах (табл. 2). Концентрації гліцину, аспарагіну та аспарагінової кислоти, проліну і оксипроліну значно збільшувались і таким чином відновлювались до нормальних значень. Рівень аланіну після 12 тижня алкоголізації був у межах контрольного, а під впливом таурину підвищувався на 34% ($P < 0,01$). У щурів із хронічним алкогольним панкреатитом після

введення таурину впродовж 14 днів концентрації глютамінової кислоти, треоніну, орнітину, лізину та аргініну в шлунковому соку статистично достовірно не змінювались. Концентрації глютамінової кислоти та треоніну залишались на рівні контролю, а орнітину, лізину та аргініну меншими на 33% ($P < 0,01$).

Аналіз отриманих в цьому дослідженні результатів показав значне підвищення кислотності шлунка у тварин впродовж усього часу розвитку хронічного алкогольного панкреатиту та посилення секреції білків у окремих тварин після 12 тижнів алкоголізації при суттєвому зменшенні секреції слизу. Оскільки етанол добре розчиняється в ліпідах мембран, він глибоко проникає в слизову оболонку шлунка і викликає мікрovasкулярні пошкодження [23]. Алкоголь активує окиснення ліпідів і протеїнів у тканині шлунка [18]. Ці процеси супроводжуються запаленням, утворенням ерозій і виразок та можуть значно прискоритись на тлі зниження захисту слизової оболонки шлунка через пригнічення секреції слизу. Після чотирьох внутрішньошлункових введення 50% розчину етанолу мишам зменшувалась кількість бокаловидних клітин у слизовій оболонці шлунка і, відповідно, секреція слизу [24]. Зміни метаболізму та секреторної активності залоз шлунка у щурів, які споживали алкоголь, пов'язані зі збільшенням рівня Ca^{2+} у цитозолі та мітохондріях, а стимуляція споживання кисню та глюкози супроводжувалась збільшенням рівня АТФ та НАДФ [25]. Застосування етанолу призводить до збільшення вмісту протеїн карбонілу в слизовій оболонці шлунка та індексу окиснення протеїнів [26]. При цьому зростає активність мієлопероксидази та індекс інфільтрації нейтрофілів, а активність каталази та супероксиддисмутази зменшується. Такі зміни перебігу окисних процесів в слизовій оболонці шлунка викликають утворення геморагічних виразок.

На різних строках споживання алкоголю по-різному перерозподілялись концентрації амінокислот у шлунковому соку та їх співвідношення у спектрі, а сумарна концентрація вільних амінокислот від тенденції після 4 та 8 тижнів переходила до вірогідного зменшення після 12 тижня споживання етанолу. Шлунок та підшлункова залоза належать до органів з високим колообігом білків. Амінокислоти, крім того що входять до складу білків, мають важливе значення у фізіологічному функціонуванні шлунка і підшлункової залози. Зміни шлункової секреції та метаболізму амінокислот у тварин із хронічним алкогольним панкреатитом, ймовірно, пов'язані з тривалим споживанням алкоголю. Відомо, що етанол посилює секрецію соляної кислоти та впливає на нормальну абсорбцію амінокислот [10]. В сучасній літературі відомості щодо ролі будь-яких амінокислот, а також їх дисбалансу у функціонуванні органів травлення в нормі та за умов патології дуже обмежені. Встановлення амінокислотного профілю біоридин під час розвитку панкреатиту може бути корисним для оцінки їх ролі впродовж захворювання, дати розуміння патогенезу даної патології та бути одним із засобів її діагностики. Отримані нами результати свідчать, що найбільш характерними змінами для алкогольного панкреатиту є зменшення концентрацій валіну, тирозину, аргініну, лізину та орнітину, які спостерігались впродовж усього часу розвитку патології, а також проліну та оксипроліну, гліцину, аспарагінової кислоти та аспарагіну при підвищенні рівнів лейцину, ізолейцину, фенілаланіну та триптофану, котрі мали місце на заключних етапах алкоголізації. Важливо відмітити також зменшення пулу сірковмісних амінокислот та значне зниження концентрації найважливішого продукту їх деградації – таурину, що вказує на гальмування ланцюгів реакцій, які забезпечують перетворення сірковмісних амінокислот при алкогольному панкреатиті.

Виявлені зміни біохімічного складу шлункового секрету, ймовірно, впливають на зовнішньосекреторну діяльність підшлункової залози. Відомо, що тривала гіпер- або гіпосекреція шлунка та їх наслідки можуть сприяти розвитку хронічного панкреатиту чи обтяжувати його перебіг [27]. Хронічне підвищення кислотності в нашому експерименті може бути одним із факторів розвитку патології підшлункової залози. Дані літератури свідчать, що амінокислоти з розгалуженими вуглецевими ланцюгами, особливо лейцин, стимулюють асиміляцію білків у панкреатичних ацинарних клітинах через mTOR шлях [28]. Цим шляхом також ініціюють синтез білка аргінін і глютамін [29]. В наших дослідах лейцин, концентрація якого в секреті, отриманому після 12 тижнів споживання етанолу, значно збільшувалась, може стимулювати синтез білків у клітинах залоз шлунка, що і спостерігалось у третини групи дослідних тварин в нашому експерименті. З іншого боку концентрації валіну та аргініну істотно знижувались. Можливо, індивідуальні коливання співвідношення рівнів амінокислот, залучених до регуляції синтезу білків, у щурів впливають на його інтенсивність у слизовій оболонці шлунка та вивільнення білків у шлунковий сік. Ці процеси суттєво відрізнялись у окремих тварин однієї групи. Лейцин здатний стимулювати синтез ферментів у підшлунковій залозі [28], що при незмінному об'ємі секрету

призводить до утворення білкових преципітатів, які кальцифікують і обтурують панкреатичні протоки, внаслідок чого відбувається самоперетравлення залози. Джерела літератури свідчать, що фенілаланін може зв'язуватись з Ca^{2+} -чутливими рецепторами лінії холецистокінінпродукуючих клітин проксимального відділу тонкої кишки та викликати вивільнення холецистокініну, який стимулює секрецію ферментів підшлункової залози [15]. У пацієнтів із хронічним алкогольним панкреатитом відмічалось зростання коефіцієнта співвідношення фенілаланін/тирозин у плазмі крові [10]. Таким чином, дисбаланс амінокислот в нашому експерименті може сприяти розвитку панкреатиту. Слід зауважити, що збільшення коефіцієнта гідроксилування фенілаланіну у щурів із панкреатитом є вагомою підставою для дослідження морфофункціонального стану печінки у цих тварин, оскільки такі зміни коефіцієнта можуть свідчити про патологічні зміни в органі.

Таурин відновлював кислотність шлункового вмісту, нормальну секрецію слизу, рівні загального білка та більшості амінокислот, які змінювались впродовж розвитку хронічного алкогольного панкреатиту. На ізольованих клітинах слизової оболонки шлунка щурів показано, що таурин збільшує їх резистентність при дії етанолу, що підтвердила оцінка проникності плазматичної мембрани, мітохондріальної інтеграції і пошкоджень ядра [17]. Ця амінокислота полегшує перебіг шлункового оксидативного стресу та геморагічної ерозії у щурів зі змодельованою ішемією мозку, стимулюючи синтез глутатіону [30]. При пошкодженні тканин шлунка нестероїдними протизапальними препаратами таурин пригнічує синтез ендотеліну-1, внаслідок чого збільшується вміст тканинного NO, послаблює інфільтрацію нейтрофілів, здійснює потужний антиоксидантний вплив, що проявляється у нормалізації рівнів мієлопероксидази, супероксиддисмутази, кон'югованих дієнів та глутатіону у слизовій оболонці шлунка [31]. Завдяки таким властивостям, зокрема здатності стабілізувати мембрани клітин, антиоксидантній дії, впливу на синтез оксиду азоту тощо, таурин може відновлювати нормальний функціональний стан шлунка у тварин з алкогольним панкреатитом. Це призводить до зниження кислотності шлунка та концентрації загального білка до рівня контролю. Разом з цим, таурин впливає на функціонування підшлункової залози і печінки, регулює рівні глюкози та холестерину в крові [32]. Кон'югація таурину в гепатоцитах з жовчними кислотами збільшує їх полярність і розчинність у воді. При надходженні таурину в печінку швидкість секреції жовчних кислот збільшується. За умов інтоксикації організму таурин зменшує підвищені концентрації аспартаттрансамінази, аланінамінотрансферази і алкалінфосфатази в сироватці крові, пригнічуючи гепатичний апоптоз і некроз, пом'якшує печінкову жирову пероксидацію. Враховуючи описану нами картину вмісту амінокислот у шлунковому соку як характерну ознаку хронічного алкогольного панкреатиту, перерозподіл концентрацій амінокислот та їх співвідношення у спектрі, зокрема фенілаланіну та тирозину, під впливом таурину можна вважати свідченням відновлення процесів обміну амінокислот і білків та покращення функціонального стану підшлункової залози та печінки.

Висновки

1. Впродовж розвитку експериментального хронічного алкогольного панкреатиту істотно посилюється кислототвірна функція секреторних залоз шлунка при функціональній недостатності додаткових та поверхнево-епітеліальних і збереженій активності головних клітин слизової оболонки шлунка.
2. При хронічному експериментальному алкогольному панкреатиті значно зменшується загальний пул вільних амінокислот шлункового соку, що супроводжується вираженим амінокислотним дисбалансом, який прогресує з часом впродовж розвитку патології.
3. Метаболічний профіль біорідин, зокрема шлункового соку, у тварин із алкогольним панкреатитом характеризується зменшенням концентрацій валіну, тирозину, аргініну, лізину, орнітину, проліну та оксипроліну, гліцину, аспарагінової кислоти та аспарагіну, а також пулу сірковмісних амінокислот, в тому числі найважливішого продукту їх деградації – таурину, при підвищенні концентрацій лейцину, ізoleyцину, фенілаланіну та триптофану.
4. Зміни біохімічного складу шлункового соку за умов тривалої алкоголізації можуть призводити до порушень морфофункціонального стану підшлункової залози та печінки, що може бути одним із механізмів розвитку хронічного панкреатиту.
5. Таурин значною мірою відновлює секреторну функцію шлунка хронічно алкоголізованих щурів, нормалізуючи рівні соляної кислоти, слизу, білків та більшості вільних амінокислот у шлунковому соку.

1. *Васильев Ю.В.* Хронический панкреатит: диагностика, лечение / Ю.В. Васильев // *Международ. мед. журн.* — 2006. — № 4. — С. 63—68.
2. *Васильев Ю.В.* Хронический панкреатит, язвы желудка и двенадцатиперстной кишки (вопросы для размышления) / Васильев Ю.В., Чурикова А.А. // *Клинико-эпидемиологические и этно-экологические проблемы заболеваний органов пищеварения.* — 2004. — С. 66—70.
3. *Губергриц Н.Б.* Место фамотидина в лечении хронического панкреатита / Н.Б.Губергриц, К.Н.Слесарева // *Сучасна гастроентерологія.* — 2009. — № 2 (46). — С. 72—80.
4. *Корабейникова Э.М.* Определение содержания свободных аминокислот в сыворотке крови и моче здоровых детей / Корабейникова Э.М., Мещерикова Г.В. // *Лаб. дело.* — 1981. — № 4. — С. 221—224.
5. *Кочетов Г.А.* Практическое руководство по энзимологии. / Кочетов Г.А. ; под ред. С.Е. Северина. — М. : Высшая школа, 1980. — 271 с.
6. *Маев И.В.* Желудочное кислотообразование и хронический панкреатит: насколько сильна взаимосвязь? / И.В. Маев, Ю.А. Кучерявый // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол.* — 2008. — № 3. — С. 4—14.
7. *Степанов Ю.М.* Особливості секреторної функції та характер мікробної контамінації вмісту шлунка за різних форм хронічного панкреатиту / Ю.М. Степанов, О.О. Крилова, А.І. Руденко [та ін.] // *Сучасна гастроентерологія.* — 2013. — № 3 (71). — С. 33—39.
8. *Яковенко А.В.* Клиника, диагностика и лечение хронического панкреатита / А.В. Яковенко // *Клин. мед.* — 2001. — Т. 79, № 9. — С. 15—20.
9. *Amanvermez R.* Protective effects of cysteine, methionine and vitamin C on the stomach in chronically alcohol treated rats / Amanvermez R., Tuncel O.K., Demir S. [et al.] // *Journ. Appl. Toxicol.* — 2008. — Vol. 28, № 5. — P. 591—598.
10. *Andrade M.C.* Alcohol-induced gastritis prevents oral tolerance induction in mice / Andrade M.C., Menezes J.S., Cassali G.D. [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* — 2006. — Vol. 146. м P. 312—322.
11. *Bode C.* Alcohol's role in gastrointestinal tract disorders / Bode C., Bode J.C. // *Alcohol Health & Research World.* — 1997. — Vol. 21, № 1— P. 76—83.
12. *Campbell C.A.* Validation of a conscious rat model for the discovery of novel agents that inhibit gastric acid secretion / C.A. Campbell, P.J. Gaskin, J. Darton [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* — 2008. — Vol. 589, № 1-3. — P. 260—263.
13. *Deng K.* High levels of aromatic amino acids in gastric juice during the early stages of gastric cancer progression / [Deng K.](#), [Lin S.](#), [Zhou L.](#) [et al.] // [PLoS One](#). — 2012. — Vol. 7, № 11. — P. e49434. (doi: 10.1371/journal.pone.0049434.)
14. *Deng K.* Three aromatic amino acids in gastric juice as potential biomarkers for gastric malignancies / [Deng K.](#), [Lin S.](#), [Zhou L.](#) [et al.] // [Anal. Chim. Acta](#). — 2011. — Vol. 694, № 1-2. — P. 100—107.
15. *Devi S.L.* Mitochondrial damage, cytotoxicity and apoptosis in iron-potentiated alcoholic liver fibrosis: amelioration by taurine / S.L. Devi, C.V. Anuradha // *Amino Acids.* — 2010. — Vol. 38. — P. 869—879.
16. *Girish B.N.* Alterations in Plasma Amino Acid Levels in Chronic Pancreatitis / B.N. Girish, G. Rajesh, K. Vaidyanathan [et al.] // *JOP. J. Pancreas.* — 2011. — Vol. 12, № 1. — P. 11—18.
17. *Hernández-Rincón I.* Enhanced intracellular calcium promotes metabolic and secretory disturbances in rat gastric mucosa during ethanol-induced gastritis / [Hernández-Rincón I.](#), [Olguín-Martínez M.](#), [Hernández-Muñoz R.](#) // [Exp. Biol. Med.](#) — 2003. — Vol. 228, № 3. — P. 315—324.
18. *Hung C.R.* Effect of taurine on gastric oxidative stress and hemorrhagic erosion in brain ischemic rats / Hung C.R. // *Chin. J. Physiol.* — 2006. — V. 49, № 3. — P. 152—159.
19. *Koken T.* Epidermal growth factor increases tissue antioxidant enzyme activities in ethanol-induced gastric injury in rat / Koken T., Erkasap N., Serteser M. // *Journ. Physiol. Biochem.* — 2006. — Vol. 62, № 4. — P. 237—244.
20. *Kono H.* Development of an animal model of chronic alcohol-induced pancreatitis in the rat / Kono H., Nakagami M., Rusyn I. // *AJP: Gastrointest. Liver Physiol.* — 2001. — Vol. 280. — P. G1178—G1186.
21. *Lillibridge C.B.* Observations on the ultrastructure of oxyntic cells in alcohol-fed dogs / Lillibridge C.B., Yoshimori M., Chey W.Y. // *Dig. Dis.* — 1973. — Vol. 18, № 6. — P. 443—454.
22. *Motawi T.K.* Modulation of indomethacin-induced gastric injury by spermine and taurine in rats / Motawi T.K., Abd Elgawad H.M., Shahin N.N. // *J. Biochem. Molecular Toxicology.* — 2007. — V. 21, № 5. — P. 280—288.
23. *Nagata Y.* High concentrations of D-amino acids in human gastric juice / Y. Nagata, [T. Sato](#), [N. Enomoto](#) [et al.] // [Amino Acids](#). — 2007. — Vol. 32, [Is. 1](#). — P. 137—140.
24. *Nagy L.* Investigation of gastroprotective compounds at subcellular level in isolated gastric mucosal cells / Nagy L., Morales R.E., Beinborn M. [et al.] // *AJP: Gastrointest. Liver Physiol.* — 2000. — V. 270. — P. G1201—G1208.
25. *Nakamura E.* Luminal amino acid-sensing cells in gastric mucosa / [Nakamura E.](#), [Hasumura M.](#), [Uneyama H.](#) [et al.] // [Digestion](#). — 2011. — Vol. 83, № 1. — P. 13—18.
26. *Palmieri V.O.* Ethanol induces secretion of oxidized proteins by pancreatic acinar cells / V.O. Palmieri, I. Grattagliano, G. Palasciano // *Cell. Biol. Toxicol.* — 2007. — Vol. 23. — P. 459—464.

27. *Sahel J.* Modifications of pure human pancreatic juice induced by chronic alcohol consumption / Sahel J., Sarles H. // *Dig. Dis. Scien.* — 1979. — Vol. 24. — P. 897—905.
28. *Sans M.D.* Leucine activates pancreatic translational machinery in rats and mice through mTOR independently of CCK and insulin / Sans M.D., Tashiro M., Vogel N.L. [et al.] // *J. Nutr.* — 2006. — Vol. 136. — P. 1792—1799.
29. *Sari R.* Ethanol inhibits the motility of rabbit sphincter of Oddi in vitro / Sari R., Palvolgyi A., Rakonczay Jr.Z. [et al.] // *World J. Gastroenterol.* — 2004. — Vol. 10, № 23. — P. 3470—3474.
30. *Szymański K.* Taurine and its potential therapeutic application / Szymański K., Winiarska K. // *Hig. Med. Dosw.* — 2008. — V. 62. — P. 75—86.
31. *Wang Y.* Amino acids stimulate cholecystokinin release through the Ca²⁺-sensing receptor / Wang Y., Chandra R., Samsa L.A. [et al.] // *AJP: Gastrointest. Liver Physiol.* — 2011. — Vol. 300. — P. G528—G537.
32. *Wu G.* Amino acids: metabolism, functions, and nutrition / Wu G. // *Amino acids.* — 2009. — Vol. 37. — P. 1—17.

О.А. Гринченко, Л.Я. Штанова, З.А. Горенко, В.Н. Бабан, В.А. Барановский, С.П. Весельский, П.И. Янчук

НИИ физиологии имени академика Петра Богача УНЦ «Институт биологии» КНУ имени Тараса Шевченко

СПЕКТР СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ЖЕЛУДОЧНОГО СОКА В ТЕЧЕНИЕ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНИЧЕСКОГО АЛКОГОЛЬНОГО ПАНКРЕАТИТА И ПОСЛЕ ЕГО КОРРЕКЦИИ ТАУРИНОМ.

В хронических опытах на не наркотизированных крысах методом аспирации исследовали желудочную секрецию и биохимический состав желудочного сока в течение развития экспериментального хронического алкогольного панкреатита и после коррекции патологии таурином. Хронический алкогольный панкреатит у крыс моделировали путем замены питья 20% раствором этанола на протяжении 14 недель. После окончания термина алкоголизации прием этанола отменяли и в течение двух недель внутрижелудочно вводили таурин из расчета 7 мг/кг. Установлено, что в течение развития панкреатита кислотность желудочного содержимого значительно возрастала, а секреция слизи уменьшалась. В желудочном соке суммарная концентрация свободных аминокислот, как и индивидуальные уровни большинства из них, у животных с патологией уменьшались, а концентрации лейцина, изолейцина, фенилаланина и триптофана увеличивались. Таурин восстанавливал секреторную функцию желудка крыс с алкогольным панкреатитом, нормализуя уровни соляной кислоты, слизи и большинства свободных аминокислот в желудочном соке.

Ключевые слова: желудочная секреция, свободные аминокислоты, панкреатит, алкоголь, таурин

O.A. Grinchenko, L.Y. Shtanova, Z.A. Gorenko, V.M. Baban, V.A. Baranovsky, S.P. Veselsky, P.I. Yanchuk

Peter Bogach Institute of Physiology ESC «Institute of Biology» National Taras Shevchenko University of Kyiv, Ukraine

GASTRIC JUICE FREE AMINO ACIDS SPECTRUM DURING THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL CHRONIC ALCOHOLIC PANCREATITIS AND AFTER CORRECTION BY TAURINE.

In chronic experiments on the conscious rats by aspiration method the gastric secretion and biochemical composition of gastric juice was investigated during the development of experimental chronic alcoholic pancreatitis and after correction of pathology by taurine. Chronic alcoholic pancreatitis in rats modeled by consuming of 20% ethanol solution by animals as the sole source of drinking for 14 weeks. Upon expiration of alcoholization the ethanol intake was abolished and taurine at a rate of 7 mg / kg intragastric administered within two weeks. It was established that during the development of pancreatitis the acidity of gastric contents significantly increased and mucus secretion decreased. In the gastric juice the total concentration of free amino acids as well as individual levels of most of them decreased in the animals with pathology, but the concentration of leucine, isoleucine, phenylalanine and tryptophan increased. Taurine restored secretory function of the stomach in rats with alcoholic pancreatitis normalizing levels of hydrochloric acid, mucus and most of free amino acids in the gastric juice.

Key words: gastric secretion, free amino acids, pancreatitis, alcohol, taurine

Рекомендує до друку
В.В. Грубінко

Надійшла 03.06.2014