

УДК 612.323+612.326.6

О.А. Грінченко, С.П. Весельський, З.А. Горенко

ЗМІНИ СПЕКТРУ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ ШЛУНКОВОГО СОКУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ НЕКРОТИЧНОМУ ПАНКРЕАТИТІ

Хронічний панкреатит характеризується деструкцією секреторної паренхіми підшлункової залози, прогресуючою екзокринною та ендокринною недостатністю, а також різноманітними ускладненнями, зокрема дисфункціями шлунка. За умов патології може змінюватись співвідношення амінокислот у біорідинах. Тому метою роботи було дослідити особливості спектру вільних амінокислот шлункового соку при експериментальному хронічному некротичному панкреатиті. Хронічний панкреатит у щурів моделювали за допомогою L-аргініну. Шлунковий вміст отримували методом аспірації на 10 та 63 доби після індукції панкреатиту, рівні вільних амінокислот визначали за допомогою методу хроматографії на папері та денситометра ДО-1М. Встановлено, що вираженість змін вмісту амінокислот залежить від тривалості перебігу патології. На 10 добу індивідуальні рівні орнітину, лізину, аргініну, глутамінової кислоти, треоніну, проліну, оксипроліну, валіну та тирозину підвищуються. Як на 10, так і на 63 доби концентрації всіх сірковмісних амінокислот, гістидину та гістаміну, аспарагінової кислоти та аспарагіну, гліцину, аланіну, лейцину та ізолейцину, фенілаланіну і триптофану істотно зменшуються, що прогресує з перебігом патології. Як наслідок через 2 місяці після індукції панкреатиту зменшується загальний пул вільних амінокислот шлункового соку. Ці зміни супроводжуються вираженим амінокислотним дисбалансом. Перерозподіл у спектрі вільних амінокислот шлункового вмісту, імовірно, впливає на екзокринну функцію шлунка.

Ключові слова: хронічний панкреатит, шлунковий сік, вільні амінокислоти.

Постановка проблеми. Аналіз останніх досліджень і публікацій. Хронічний панкреатит – це складне поліетіологічне запально-дистрофічне захворювання з порушенням прохідності протоків підшлункової залози, яке призводить до склерозу залози та значного порушення екзо- та ендокринної функції [2]. Згідно даних клінічних спостережень часто етіологічними чинниками виникнення панкреатиту можуть бути патології інших органів травлення: гіпо- та анацидний гастрити, атрофічний дуоденіт, пептична виразка та дивертикули дванадцятипалої кишки. Такий зв'язок зумовлений порушенням гуморального шляху регуляції зовнішньосекреторної функції підшлункової залози [6,13]. Внаслідок обрання неадекватної тактики лікування, що зумовлено складнощами діагностики хвороби, змінюється співвідношення факторів захисту та агресії на користь останніх і виникають ускладнення у вигляді серцево-судинної, ниркової, респіраторної та печінкової недостатності, а також різноманітні дисфункції шлунка, зокрема набряк, ерозії, крововиливи та виразки слизової оболонки [10,11]. Деякі автори відносять панкреатит до кислотозалежних захворювань. Підвищення рН або ацидифікація дванадцятипалої кишки призводять до порушення гуморальних механізмів регуляції зовнішньосекреторної функції підшлункової залози, що може бути одним із механізмів розвитку чи збільшення тяжкості перебігу хронічного панкреатиту [2,5]. Розвиток панкреатиту характеризується зростанням в тканині підшлункової залози, шлунку, печінці, легенях, селезінці та в циркулюючій крові концентрації активних форм кисню, оксиду азоту та всіх медіаторів запалення, що пояснює механізми розвитку локальної, органної та системної запальної відповіді [5,20]. За умов патології зменшується кровопостачання слизової оболонки шлунка та відбувається зворотня дифузія іонів водню, що є важливим фактором розвитку пошкоджень травного тракту [13].

Актуальність вивчення механізмів формування та перебігу хронічного панкреатиту, а також особливостей функціонування інших органів і систем за умов цієї патології зумовила розробку різними авторами експериментальних моделей панкреатиту [5,17]. Однією з неінвазивних та легко відтворюваних моделей хронічного панкреатиту є L-аргінінова модель, при якій не пошкоджуються острівці Лангерганса, тобто не страждає ендокринна функція підшлункової залози [7]. Максимальні зміни у структурі підшлункової залози, а саме деструкція до 90% ацинарної тканини, спостерігаються на 10 добу перебігу патології, а через 2 місяці відбувається заміщення ацинарної тканини на жирову, екзокринна недостатність та зменшення діаметру протоків підшлункової залози, що відповідає клінічній картині хронічного панкреатиту. Механізми пошкоджуючої дії аргініну до кінця не з'ясовані, проте дані багатьох експериментальних досліджень свідчать, що провідну роль в розвитку цієї патології відіграють вільні форми кисню [29], оксид азоту [14], медіатори запалення [30] та метаболіти арахідонової кислоти [21].

Спектр амінокислот шлункового соку може характеризувати як метаболічний статус органа, так і особливості його стану вцілому. Метаболічний профіль біоридин, зокрема шлункового соку, за умов патології відрізняється від такого в нормі [18]. Так, у пацієнтів з пептичною виразкою, хронічним гастритом та карциномою збільшується сумарна концентрація вільних амінокислот у шлунковому соці [27], а підвищення рівня ароматичних амінокислот може свідчити про малігнізацію тканин шлунка [15,16]. Крім цього амінокислоти безпосередньо впливають на секрецію соляної кислоти та шлункових ферментів, а також тканинних гормонів соматостатину і холецистокініну, які регулюють секрецію залоз шлунка і підшлункової залози [28,33].

Метою роботи було дослідити особливості спектру вільних амінокислот шлункового соку впродовж перебігу експериментального хронічного некротичного панкреатиту.

Методика

З метою створення експериментальної моделі хронічного панкреатиту самцям білих нелінійних щурів вихідною масою 190-200 г внутрішньоочеревинно вводили L-аргінін (Sigma, USA), розчинений у фізіологічному розчині, за наступною схемою: 1 доба – в дозі 5 г/кг; 4, 7, 10 доба – в дозі 2,5 г/кг маси тіла [7]. Контрольним тваринам (n=12) у зазначені вище терміни інтраперитонеально вводили відповідні об'єми фізіологічного розчину. Щурі знаходилися на звичайному харчовому раціоні віварію, а за 24 год перед дослідом вони підлягали харчовій депривації з вільним доступом до води. Базальну шлункову секрецію досліджували в хронічних спробах на одних і тих самих тваринах методом аспірації [12] на 10 (n=12) та 63 (n=6) доби після останнього введення L-аргініну. Шлунковий вміст отримували за допомогою тонкого металевого зонду, через який у шлунок тварин вводили 2 мл дистильованої води і відразу, не виймаючи зонда, відбирали вміст шлунка разом із введеною рідиною. В аспіраті вимірювали концентрації вільних амінокислот та гексозамінів, розділених методом хроматографії на папері та кількісно визначених за допомогою денситометра ДО-1М (мг/дл) [3], а також соляної кислоти шляхом титрування шлункового вмісту 0,01 Н розчином NaOH в присутності індикатора – 0,5% спиртового розчину диметиламіноазобензолу (ммоль/л) та загального білка спектрофотометрично (мкг/мл) [4].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакету прикладних програм STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA), використовуючи критерій t Стьюдента, оскільки вони мали нормальний розподіл при перевірці за тестом Шапіро-Уїлка. Статистично значущими вважали відмінності між контролем і дослідом при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Результати наших досліджень показали, що сумарна концентрація вільних амінокислот у шлунковому соці на 10 добу після останнього введення L-аргініну статистично значущо не відрізнялась від контрольної ($4,57 \pm 0,07$ мг/дл), тоді як після двох місяців перебігу патології зменшувалась на 14,4% ($P < 0,01$), складаючи $3,91 \pm 0,08$ мг/дл. При цьому як на 10, так і на 63 доби співвідношення вільних амінокислот у спектрі змінювалось, про що свідчать зміни індивідуальних рівнів амінокислот у шлунковому соці. Так, на 10 добу після індукції хронічного панкреатиту зменшувались концентрації сірковмісних амінокислот (табл.), зокрема цистеїну і цистину на 30,6% ($p < 0,001$), таурину, серину, а разом з ними і гістидину на 18,2% ($p < 0,01$), метіоніну разом з аланіном на 16,7% ($p < 0,05$). Відомо, що сірковмісні амінокислоти і гістидин є складовими ферментів та їх активних центрів. Наші досліди показали, що на фоні зменшення концентрацій амінокислот, які містять сірку, в секреті знижувався рівень загального білка. Так, значення цього показника були меншими ніж у контролі ($38,69 \pm 7,88$ мкг/мл) на 61,7% ($p < 0,05$) і становили $14,82 \pm 2,5$ мкг/мл. Ймовірно, ці зміни можуть бути викликані і свідчити про пригнічення синтезу і секреції ферментів у шлунку, зокрема протеолітичних. Отже, за умов хронічного некротичного панкреатиту змінюється перебіг метаболічних процесів у клітинах слизової оболонки шлунка, що впливає на секрецію основних складових шлункового соку. На 63 добу після останнього введення L-аргініну концентрація цистеїну і цистину залишалась істотно меншою (на 33,3%; $p < 0,001$), ніж у контрольних тварин, а аланіну і метіоніну продовжувала знижувалась і була нижчою на 43,3% ($p < 0,001$), ніж у інтактних тварин та на 32% ($p < 0,01$) щодо такої у цих же щурів на 10 день після індукції патології. Натомість рівень таурину, серину та гістидину з часом поступово відновлювався і через 2 місяці перебігу панкреатиту наближався до контрольних значень (табл.). Проте такий перерозподіл спектру описаних амінокислот через 2 місяці мало впливав на синтез білкових компонентів шлункового соку, концентрація яких залишалась істотно зниженою ($12,29 \pm 2,74$ мг/дл) щодо контролю.

Зниження рівня гістидину на 10 добу супроводжувалось зменшенням концентрації гістаміну, а разом із ним і аспарагіну в шлунковому соці на 46,7% ($p < 0,05$) (табл.), що цілком логічно, оскільки гістамін утворюється шляхом декарбоксілювання гістидину в тканинах. При цьому на 10 добу перебігу патології концентрація соляної кислоти в секреті вдвічі перевищувала контрольні значення ($2,09 \pm 0,32$ ммоль/л) і становила $4,18 \pm 1,04$ ммоль/л. Отримані нами результати вказують на те, що посилення секреції соляної кислоти парієтальними glanduloцитами відбувається не за рахунок стимуляції її гістаміном. Разом з цим, оскільки гастрин, зв'язуючись з SSK_2 -рецепторами на ECL клітинах, викликає вивільнення гістаміну в порожнину шлунка, імовірно, в наших дослідах не відбувається залучення і цього механізму активації секреторного процесу. До того ж, гастрин є потужним стимулятором секреції ферментів, але наші результати, як було зазначено вище, свідчать про пригнічення синтезу цих компонентів шлункового соку. Можна припустити, що підвищення секреції соляної кислоти відбувається за рахунок посилення активуючих впливів нейронами парасимпатичного відділу автономної нервової системи до обкладових клітин залоз, на яких розміщені M_3 холінорецептори. На користь цієї гіпотези свідчать дослідження Lechin F. і співавторів [24], які встановили, що L-аргінін, який був використаний для моделювання панкреатиту, посилює активність як симпатичного, так і парасимпатичного відділів автономної нервової системи. На 63 добу після індукції патології концентрація аспарагіну і гістаміну в шлунковому вмісті була на 50% нижчою ($p < 0,05$), ніж у інтактних тварин (табл.). При цьому зберігалась тенденція підвищення

кислотності шлункового вмісту у щурів із експериментальною моделлю панкреатиту ($2,8 \pm 1,13$ ммоль/л).

Таблиця

Концентрації вільних амінокислот та їх похідних у шлунковому соці інтактних щурів і тварин із експериментальним хронічним некротичним панкреатитом (мг/дл; $M \pm m$)

Амінокислоти	Контроль n=12	Панкреатит	
		10 доба n=12	63 доба n=6
Цистеїн+цистин	0,36±0,02	0,25±0,02***	0,24±0,02***
Таурин+гістидин+серин	0,33±0,02	0,27±0,02**	0,3±0,01
Аланін+метіонін	0,3±0,01	0,25±0,02*	0,17±0,02***##
Аспарагін+гістамін	0,03±0,003	0,016±0,003*	0,015±0,003*
Глутамінова кислота+треонін	0,7±0,02	0,79±0,01**	0,77±0,03
Пролін+оксипролін	0,46±0,01	0,57±0,02**	0,71±0,07***##
Гліцин+аспарагінова кислота	0,63±0,02	0,53±0,04*	0,49±0,03**
Орнітин+лізин+аргінін	0,33±0,01	0,39±0,02*	0,32±0,03#
Валін+тирозин	0,19±0,01	0,26±0,02**	0,2±0,02#
Лейцин+фенілаланін	0,7±0,02	0,55±0,03***	0,44±0,02***#
Ізолейцин+триптофан	0,54±0,01	0,54±0,03	0,34±0,02***##

Примітки. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ щодо контролю. # - $p < 0,05$; ## - $p < 0,01$ щодо серії дослідів, поставленої на 10 добу перебігу хронічного панкреатиту. n – кількість тварин із групи

На 10 добу перебігу патології в секреті зменшувалась концентрація гексозамінів на 23,8% ($p < 0,001$; $3,26 \pm 0,17$ проти $4,28 \pm 0,17$ мг/дл у контролі), проте зростали рівні глутамінової кислоти та треоніну на 12,9% ($p < 0,01$), проліну та оксипроліну на 23,9% ($p < 0,01$) (табл.). Зменшення концентрації гексозамінів свідчить про пригнічення секреції шлункового слизу у щурів із експериментальним панкреатитом. Разом з цим глутамінова кислота є джерелом енергії для епітеліальних клітин і важливим учасником обміну азоту. Вона, приєднуючи до себе атом азоту, перетворюється на глутамін та знешкоджує аміак. Треонін, зв'язуючись з муцинами, бере участь у забезпеченні бар'єрної функції слизу, а також разом із проліном збільшує продукцію колагену і еластину. Таким чином, ці амінокислоти задіяні у підтриманні цілісності слизової оболонки травного тракту [32]. Отже, отримані нами результати дозволяють припустити, що на 10 добу перебігу хронічного панкреатиту на тлі пригнічення секреції шлункового слизу відсутні процеси запалення та виразкоутворення в тканинах шлунка. Впродовж перебігу патології концентрація гексозамінів зменшувалась і через 2 місяці була меншою ніж у контролі на 32,2% ($p < 0,001$), тоді як рівень проліну та оксипроліну продовжував зростати.

Дані джерел літератури свідчать, що на парієтальних клітинах залоз шлунка щурів методами полімеразної ланцюгової реакції, вестерн-блоттингу та імуногістохімії встановлена експресія гетеродимерних 4F2-LAT2 транспортерів амінокислот, які залучені до секреції соляної кислоти [19,23]. Екструзія H^+ , викликана гістаміном, в присутності субстратів системи транспорту L-амінокислот глутаміну або цистеїну збільшується у півтора рази, натомість блокада цієї системи нівелює стимуляцію секреції соляної кислоти глутаміном або цистеїном [23]. За відсутності гістаміну вихід H^+ може стимулювати глутамін. Ця амінокислота не збільшує внутрішньоклітинний рівень Ca^{2+} , отже діє на обкладові клітини не через Ca^{2+} -чутливі рецептори, з якими амінокислоти здатні зв'язуватись і модулювати шлункову секрецію [23]. Відомо, що

глутамін і фенілаланін впливають на внутрішньоклітинний обмін амінокислот, активуючи таким чином H^+K^+ -АТФазу і секрецію соляної кислоти [19]. Отже, збільшення кислотності шлункового соку в наших дослідах може бути пов'язано із підвищенням рівня глутамінової кислоти у шлунковому вмісті, із активацією її амідом системи 4F2-LAT2 транспортерів амінокислот і відповідним перерозподілом спектру амінокислот в обкладкових клітинах. В літературі є дані про гальмування глутаматом вивільнення соматостатину з Д-клітин [28], що показано на культурі клітин слизової оболонки шлунка щурів. Оскільки соматостатин є інгібітором шлункової секреції, то глутамат таким чином її стимулює. У шлунку глутамат взаємодіє зі специфічними рецепторами (T_1R_1/ T_1R_3 і $mGluR_{1-8}$), які розташовані на поверхні епітеліальних клітин і клітин шлункових залоз, а також активує аферентні волокна вагуса паракринним шляхом за допомогою NO і серотоніну [22].

Через 2 місяці після індукції хронічного панкреатиту рівень глутамінової кислоти і треоніну мав тенденцію до збільшення (табл.), а проліну та оксипроліну продовжував зростати, перевищуючи контрольні значення на 54,4% ($p < 0,001$) та відповідні значення у цих же щурів на 10 добу після останньої ін'єкції L-аргініну на 24,6% ($p < 0,01$).

Варто відмітити зменшення концентрації гліцину та аспарагінової кислоти у шлунковому вмісті щурів із експериментальним хронічним некротичним панкреатитом, взятих в дослід на 10 добу перебігу патології, на 15,9% ($p < 0,05$) і на 63 добу – на 22,2% ($p < 0,01$) (табл.). Відомості літератури свідчать про протекторну роль гліцину при пошкодженнях слизової оболонки тонкого [25] і товстого [31] кишечника, покращення ним мікроциркуляції в печінковій паренхімі при експериментальному алкогольному панкреатиті [26], регуляцію гомеостазу вільних радикалів [34] та прояв антиоксидантних властивостей [8]. Аспарагінова кислота, подібно до глутамінової, задіяна в процесах знешкодження аміаку. В умовах нашого експерименту, вочевидь, функції гліцину та аспарагінової кислоти в шлунку частково виконують інші амінокислоти, зокрема глутамінова.

За умов хронічного некротичного панкреатиту на 10 добу підвищувався рівень діаміномонокарбонових кислот (табл.) у секреті. Так, концентрація орнітину, лізину та аргініну збільшилась на 18,2% ($p < 0,05$). Введення аргініну котам викликає підвищення в плазмі крові концентрації інсуліну [35], який належить до стимуляторів шлункової секреції. Разом з цим у клітинах шлунка, зокрема залозистих, відбувається генерація оксиду азоту з L-аргініну. NO посилює кровотік у слизовій оболонці шлунка, таким чином активуючи її живлення і впливає на процеси секреції. Оскільки результати наших попередніх досліджень [1] і дані літератури [9] свідчать про гальмівну дію NO на секрецію шлункових залоз, можна припустити, що пригнічення синтезу білків у слизовій оболонці шлунка щурів із хронічним панкреатитом відбувається за участю оксиду азоту. Через 2 місяці після індукції панкреатиту рівень орнітину, лізину і аргініну в шлунковому соці знизився на 18% ($p < 0,05$) щодо такого на 10 добу перебігу патології, відновлюючись до контрольних значень.

На 10 добу після останньої ін'єкції L-аргініну концентрація валіну і тирозину в шлунковому вмісті щурів збільшувалась на 36,8% ($p < 0,01$), а фенілаланіну та лейцину зменшувалась на 21,4% ($p < 0,001$). На 63 добу концентрація валіну і тирозину знизилась на 23,1% ($p < 0,05$) щодо такої на 10 добу перебігу патології і статистично значущо не відрізнялась від контролю. Рівень фенілаланіну і лейцину продовжував знижуватись (на 20% ($p < 0,05$) щодо такого на 10 добу та на 37,1% ($p < 0,001$) щодо контролю), при цьому рівень триптофану та ізолейцину також знизився на 37% ($p < 0,01$) щодо контролю.

Отримані нами результати узгоджуються з даними Girish B.N. і співавторів [18] про зменшення індивідуальних концентрацій більшості вільних амінокислот у плазмі

крові пацієнтів із хронічним панкреатитом. Клінічна картина характеризується зниженням рівнів серину, гістидину, аргініну, треоніну, тирозину, валіну, метіоніну, цистину, лейцину, ізолейцину та аспартату. Натомість концентрації глутамату, гліцину, проліну та лізину збільшуються, а аланіну і фенілаланіну не змінюються. Напрямок змін рівнів більшості із цих амінокислот у шлунковому вмісті щурів у нашому експерименті співпадав із таким у плазмі крові пацієнтів. Характерною ознакою хронічного панкреатиту можна вважати зниження рівнів сірковмісних амінокислот як в крові людей, так і в шлунковому вмісті щурів. Крім цього у людей відзначалось зменшення концентрацій амінокислот із розгалуженими вуглецевими ланцюгами, зокрема валіну, лейцину та ізолейцину. Подібні зміни, за винятком рівня валіну, відбувались у шлунковому соці щурів в наших дослідах. Зміни співвідношення вільних амінокислот, імовірно, впливали на секрецію основних компонентів шлункового соку та стан слизової оболонки шлунка. Підвищення рівнів лізину, тирозину, треоніну, проліну, оксипроліну та глутамінової кислоти може сприяти збереженню цілісності слизової оболонки шлунка, зменшувати ризик розвитку запалення та виразкоутворення. Глутамінова кислота, концентрація якої на 10 добу перебігу панкреатиту збільшувалась, на тлі зниження секреції гістаміну могла викликати стимуляцію секреції соляної кислоти. Зниження рівнів сірковмісних амінокислот, імовірно, призводило до пригнічення секреції білкових компонентів шлункового соку, чому також сприяло збільшення в секреті рівня аргініну, який здатний гальмувати секрецію ферментів через посилення синтезу оксиду азоту.

Висновки

За умов експериментального хронічного некротичного панкреатиту, викликаного L-аргініном, змінюється вміст вільних амінокислот у шлунковому соці. Вираженість таких змін залежить від тривалості перебігу патології. На 10 добу підвищуються індивідуальні рівні орнітину, лізину, аргініну, глутамінової кислоти, треоніну, валіну та тирозину, які з часом перебігу патології відновлюються до контрольних значень, а також проліну та оксипроліну, приріст яких із часом збільшується. За умов панкреатиту концентрації всіх сірковмісних амінокислот, гістидину та гістаміну, аспарагінової кислоти та аспарагіну, гліцину, аланіну, лейцину та ізолейцину, фенілаланіну і триптофану істотно зменшуються, що прогресує з перебігом патології. Як наслідок через 2 місяці після індукції панкреатиту зменшується загальний пул вільних амінокислот шлункового соку. Ці зміни супроводжуються вираженим амінокислотним дисбалансом. Перерозподіл у спектрі вільних амінокислот шлункового вмісту, імовірно, впливає на екзокринну функцію шлунка, про що свідчать підвищення кислотності та пригнічення секреції білкових компонентів шлункового соку.

Література

1. Грінченко О.А. Роль оксиду азоту і таурину у регуляції секреторної функції шлунка собак (The role of nitric oxide and taurine in regulation of dogs gastric secretory function) / О.А. Грінченко, П.І. Янчук // Фізіологічний журнал. - 2012. - Т. 58, № 6. - С. 48-56.
2. Губергриц Н.Б. Место фамотидина в лечении хронического панкреатита (Famotidine place in the treatment of chronic pancreatitis) / Губергриц Н.Б., Слесарева К.Н. // Сучасна гастроентерологія. - 2009. - № 2(46). - С. 73-80.
3. Коробейникова Э.М. Определение содержания свободных аминокислот в сыворотке крови и моче здоровых детей (Determination of free amino acids in the serum and urine of healthy children) / Коробейникова Э.М., Мещерякова Г.В. // Лаб.дело. - 1981. - № 4. - С. 221-224.
4. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии (A practical guide to enzymology) / Кочетов Г.А. ; под ред. С.Е. Северина. - М. : Высшая школа, 1980. - 271 с.
5. Маев И.В. Желудочное кислотообразование и хронический панкреатит: насколько сильна взаимосвязь? (Gastric acid production and chronic pancreatitis: how strong is the mutual relationship?) / Маев И.В., Кучерявый Ю.А. // РЖГГК. - 2008. - № 3. С. 4-14.

6. Степанов Ю.М. Особливості секреторної функції та характер мікробної контамінації вмісту шлунка за різних форм хронічного панкреатиту (The peculiarities of secretory function and character of microbial contamination of the stomach in various forms of chronic pancreatitis) / Степанов Ю.М., Крилова О.О., Руденко А.І. [та ін.] // Сучасна гастроентерологія. – 2013. - № 3 (71). – С. 33-39.
7. Aghdassi A.A. Animal model for investigating chronic pancreatitis / Aghdassi A.A., Mayerle J., Christochowitz S. [et al.] // *Fibrogenesis & tissue repair*. – 2011. - Vol. 4, № 1. – P. 26.
8. Alcaraz-Conteras Y. Effect of glycine on lead mobilization, lead-induced oxidative stress, and hepatic toxicity in rats / Alcaraz-Conteras Y., Garza-Ocañas L., Carcaño-Díaz K., Ramírez-Gómez X.S. // *J. Toxicol.* – 2011. – Vol. 201. – ID430539. – 7 p.
9. Berg A. Nitric oxide inhibits gastric acid secretion by increasing intraparietal cell levels of cGMP in isolated human gastric glands / Berg A., Redeen S., Grenegard M. [et al.] // *AJP: Gastrointest. Liver Physiol.* – 2005. – Vol. 289. – P. G1061-G1066.
10. Blum T. Fatal outcome in acute pancreatitis: its occurrence and early prediction / Blum T., Maisonneuve P., Lowenfels A.B., Lankish P.G. // *Pancreatol.* – 2001. - Vol. 1, № 3. – P. 237-241.
11. Browne G.W. Pathophysiology of pulmonary complications of acute pancreatitis / Browne G.W., Pitchumoni C.S. // *World J. Gastroenterol.* – 2006. - Vol. 12, № 44. – P. 7078-7096.
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. Cao M. Cannabinoid HU210 protect isolated rat stomach against impairment caused by serum of rats with experimental acute pancreatitis / Cao M., Li J., Xu J. [et al.] // *PLoS ONE*. – 2012. - Vol. 7, № 12. – P. e52921.
14. Delaney C.P. Pancreatic atrophy: a new model using serial intra-peritoneal injections of L-arginine / Delaney C.P., McGeeney K.F., Dervan P., Fitzpatrick J.M. // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1993. - Vol. 28, № 12. – P. 1086-1090.
15. 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.)
16. 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.
17. Folch-Puy E. Importance of the liver in systemic complications associated with acute pancreatitis: the role of Kupffer cells / Folch-Puy E. // *J. Pathol.* – 2007. - Vol. 211, № 4. – P. 383-388.
18. 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.
19. Goo T. Mechanisms of intragastric pH sensing / Goo T., Akiba Y., Kaunitz J.D. // *Curr. Gastroenterol. Rep.* – 2010. – Vol. 12, № 6. – P. 465-470.
20. Hegyi P. L-arginine-induced experimental pancreatitis / Hegyi P., Raconzay Z., Sari R. [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2004. - Vol. 10, № 14. – P. 2003-2009.
21. Hegyi P. Spontaneous and cholecystokinin-octapeptide-promoted regeneration of the pancreas following L-arginine-induced pancreatitis in rat / Hegyi P., Takacs T., Jarmay K. [et al.] // *Int. J. Pancreatol.* – 1997. - Vol. 22, № 3. – P. 193-200.
22. Khropycheva R. Dietary glutamate signal evokes gastric juice excretion in dogs / Khropycheva R., Andreeva J., Uneyama H. [et al.] // *Digestion*. – 2011. – Vol. 83, Suppl. 1. – P. 7-12.
23. Kirchhoff P. An amino acid transporter involved in gastric acid secretion / P. Kirchhoff, M.H. Dave, C. Remy // *Pflügers Archiv*. – 2006. – Vol. 451, Is. 6. – P. 738-748.
24. Lechin F. Arginine-induced pancreatitis: involvement of the autonomic nervous system? / F. Lechin, B. Dijs // *AJP: Gastrointest. Liver Physiol.* – 2008. - Vol. 294. – P. G1450-1451.
25. Lee M.A. Influence of glycine on intestinal ischemia-reperfusion injury / Lee M.A., McCauley R.D., Kong S.E., Hall J.C. // *J. Parenter. Enteral. Nutr.* – 2002. – Vol. 26. – P. 130-135.
26. Mikalauskas S. Dietary glycine protects from chemotherapy-induced hepatotoxicity / Mikalauskas S., Mikalauskienė L., Bruns H. [et al.] // *Amino Acids*. – 2011. – Vol. 40, Is. 3. – P. 1139-1150.
27. 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.
28. Nakamura E. Luminal amino acid-sensing cells in gastric mucosa / Nakamura E., Hasumura M., Uneyama H. [et al.] // *Digestion*. – 2011. – Vol. 83, Suppl. 1. – P. 13-18.
29. Otsuki M. Animal models of chronic pancreatitis / Otsuki M., Yamamoto M, Yamaguchi T. // *Gastroenterol. Res. Pract.* – 2010. - Article ID 403295, 8 p. Doi:10.1155/2010/403295.
30. Tani S. New model of acute necrotizing pancreatitis induced by excessive doses of arginine in rats / Tani S., Itoh H., Okabayashi Y. [et al.] // *Dig. Dis. Scien.* – 1990. - Vol. 35, № 3. – P. 367-374.

31. Tsune I. Dietary glycine prevents chemical-induced experimental colitis in the rat / Tsune I., Ikejima K., Hirose M. [et al.] // *Gastroenterology*. – 2003. – Vol. 125, Is. 3. – P. 775-785.
32. Wang W.W. Amino acids and gut function / Wang W.W., Qiao S.Y., Li D.F. // *Amino acids*. – 2009. – Vol. 37. – P. 105-110.
33. 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.
34. Wu G. Glutathione metabolism and its implication for health / Wu G., Fang Y.Z., Yang S. [et al.] // *J. Nutr.* – 2004. – Vol. 1345. – P. 489-492.
35. Yasuda K. Insulin responses to administrations of amino acids and fatty acids in healthy cats / Yasuda K., Takashima S., Takagi M. [et al.] // *J. Vet. Med. Scien.* – 2011. – Vol. 73, № 10. – P. 1281-1286.

Аннотация. *Гринченко О.А., Весельский С.П., Горенко З.А. Изменения спектра свободных аминокислот желудочного сока при экспериментальном хроническом некротическом панкреатите. Хронический панкреатит характеризуется деструкцией секреторной паренхимы поджелудочной железы, прогрессирующей экзокринной и эндокринной недостаточностью, а также разнообразными осложнениями, в частности дисфункциями желудка. При патологии может меняться соотношение аминокислот в биожидкостях. Поэтому целью работы было исследовать особенности спектра свободных аминокислот желудочного сока при экспериментальном хроническом некротическом панкреатите. Хронический панкреатит у крыс моделировали с помощью L-аргинина. Желудочное содержимое получали методом аспирации на 10 и 63 сутки после индукции панкреатита, концентрации свободных аминокислот определяли с помощью метода хроматографии на бумаге и денситометра ДО-1М. Установлено, что выраженность изменений содержания аминокислот зависит от длительности течения патологии. На 10 сутки индивидуальные уровни орнитина, лизина, аргинина, глутаминовой кислоты, треонина, пролина, оксипролина, валина и тирозина повышаются. Как на 10, так и на 63 сутки концентрации всех серосодержащих аминокислот, гистидина и гистамина, аспарагиновой кислоты и аспарагина, глицина, аланина, лейцина и изолейцина, фенилаланина и триптофана существенно уменьшаются, что прогрессирует с течением патологии. В результате через 2 месяца после индукции панкреатита уменьшается общий пул свободных аминокислот желудочного сока. Эти изменения сопровождаются выраженным аминокислотным дисбалансом. Перераспределение в спектре свободных аминокислот желудочного содержимого, вероятно, влияет на экзокринную функцию желудка.*

Ключевые слова: *хронический панкреатит, желудочный сок, свободные аминокислоты.*

Summary. *Grinchenko O.A., Veselsky S.P., Gorenko Z.A. Alterations in gastric juice free amino acid spectrum in experimental chronic necrotic pancreatitis. Chronic pancreatitis is characterized by destruction of pancreatic secretory parenchyma, progressive exocrine and endocrine insufficiency, as well as a various complications including gastric dysfunctions. At the pathology can changes the ratio of amino acids in bioliquids. Therefore the aim of the work was to investigate the gastric juice free amino acid spectrum features in experimental chronic necrotic pancreatitis. Chronic pancreatitis in rats modeled using L-arginine. Gastric content obtained by aspiration method at 10 and 63 days after pancreatitis induction, free amino acid levels were determined using the method of paper chromatography and densitometer DO-1M. It was established that the expression of amino acids content changes depends on the pathology course duration. On the 10 day the individual levels of ornithine, lysine, arginine, glutamic acid, threonine, proline, oxyproline, valine and tyrosine are increased. As at 10 and 63 days the concentration of sulfur-containing amino acids, histidine and histamine, aspartic acid and asparagine, glycine, alanine, leucine and isoleucine, phenylalanine and tryptophan are significantly reduced, which progresses with the course of pathology. As a result, 2 months after the induction of pancreatitis the total pool of gastric juice free amino acid is reduced. These changes are accompanied by distinct amino acid imbalance. Redistribution in the gastric content free amino acids spectrum is likely to affect the exocrine function of the stomach.*

Key words: *chronic pancreatitis, gastric juice, free amino acids.*

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Одержано редакцією 26.12.2014

Прийнято до публікації 05.02.2015