

Summary

DESIGN OF INFLAMMATORY MASS IN THE ABDOMINAL CAVITY DURING LONG-TERM EXPERIMENT

Sukhin A.I., Savitskaja I.M., Titarenko S.N.

Key words: experiment, chronic infiltrate, abdominal cavity, rabbit

This article is devoted to creating of the design of inflammatory mass in the abdominal cavity. The research is aimed to design typical processes in the infiltrate formation regardless of its constituents. 30 rabbits were used to select the number of microbic strains of various causative agents, which do not produce the development of abscesses and peritonites. During the surgeries performed on 60 rabbits there have been formed chronic infiltrates between the afferent and efferent loops of large intestine, its mesocolon and the caul strand; between the spleen and the caul. Infiltrate formation have been examined on the 3rd, 7th, 14th, and 28th days. By bacteriological investigations there has been found out the dynamics in changes of bacterial components both qualitatively and quantitatively. By histological studies it has been possible to trace the stages in the development of abdominal infiltrates. Our techniques allows to form an abdominal chronic infiltrate of predictable course, considerably reduce the ter of the experiments and the number of animals.

УДК : [616.316 – 092.9:577.175.73]:615.218

АКТИВНІСТЬ ОРНІТИНДЕКАРБОКСИЛАЗИ, А-АМІЛАЗИ ТА NO-ЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЗА УМОВ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ ТА СТИМУЛЯЦІЇ СЕКРЕЦІЇ ГІСТАМІНОМ ТА КАРБАХОЛІНОМ

Сухомлин А.А., Непорада К.С.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Метою нашого дослідження було вивчення впливу гіпергастринемії за умов стимуляції секреції гістаміном та карбахоліном на тканини слинних залоз щурів. Експерименти виконані на 55 щурах-самцях лінії Вістар, вагою 180-250г. В гомогенаті слинних залоз визначали активність орнітиндекарбоксилази, а-амілази та NO-ергічної системи. Стимуляція секреції за умов омепразол-індукованої гіпергастринемії приводить до таких наслідків: введення гістаміну та карбахоліну призводило до зниження активності орнітиндекарбоксилази та а-амілази в тканинах слинних залоз та до зростання активності NO-синтази, збільшення вмісту нітритів в тканинах слинних залоз. Це свідчить про пригнічення синтезу регуляторних поліамінів, нуклеїнових кислот і білків за умов стимуляції секреції та активації NO-ергічної системи в слинних залозах.

Ключові слова: слинні залози, омепразол, гіпергастринемія, карбахолін, гістамін, поліаміни, оксид азоту.

Вступ

Останніми роками захворюваність на виразкову хворобу та хронічний гастрит суттєво зросла. В клінічній практиці для лікування кислотозалежних захворювань широко застосовуються інгібітори протонної помпи (ІПП): омепразол, ланзопразол та інші, які знижують шлункову секрецію шляхом впливу на H⁺/K⁺-АТФазу, що призводить до зниження шлункової секреції, і як наслідок розвитку гіпергастринемії [14]. Гіпергастринемія – один з головних патогенетичних механізмів у розвитку пухлин шлунка та інших відділів шлунково-кишкового тракту (ШКТ) [6]. Доведено, що гіпергастринемія відіграє важливу роль в розвитку колоректального раку [10]. Також, гіпергастринемія спостерігається при розвитку гастринсекретуючих пухлин, наприклад, при синдромі Золлінгера-Еллісона.

Механізм дії гастрину, як і більшості пептидних гормонів, мембранно-внутрішньоклітинний. Гастрин, зв'язуючись з рецептором Gastrin-cholecystokinin type B receptor на мембрані паріетальних клітин слизової оболонки шлунка (СОШ), призводить до підвищення вмісту в клі-

тині Ca²⁺ та як наслідок до підвищення активності протонної помпи (H⁺/K⁺-АТФаза). Також гастрин стимулює вивільнення тканинними базофілами гістаміну, який через гістамінові H₂-рецептори призводить до підвищення вмісту цАМФ в паріетальній клітині та до підвищення активності протонної помпи. Окрім стимулюючого впливу на шлункову секрецію, гастрин також володіє трофічним впливом на органи шлунково-кишкового тракту. Цей вплив реалізується за допомогою іншого механізму через синтез фактору росту епідерміса та регуляторних поліамінів. ФРЕ здійснює свій регуляторний вплив через мембранний рецептор, що складається з 2 субодиниць. Субодиниця, що розташовується з зовнішнього боку мембрани, зв'язується з ФРЕ, а внутрішня субодиниця активує тирозинову протеїнкіназу. Існують дані про те, що фосфорилування здійснюється протеїнкіназою С, активність якої регулюється цАМФ. Також цАМФ регулює активність орнітиндекарбоксилази, яка є ключовим ферментом синтезу регуляторних поліамінів таких як путресцин, спермін, спермідин та інших, які регулюють процеси реплікації, транскрипції та трансляції в клітині, а отже і регулюють про-

* Планова НДР: «Роль біорегуляторів у механізмі розвитку патологічних змін органів системи травлення», № 0109U007982

цеси проліферації клітин та синтезу білків. На теперішній час, дослідниками приділяється багато уваги ролі NO в розвитку багатьох захворювань, також відомо, що монооксид азоту виконує месенджерну функцію, тому дослідження NO-ергічної системи слинних залоз за умов омепразол-індукованої гіпергастринемії є досить актуальним.

Мета. Метою нашого дослідження було вивчення впливу омепразол-індукованої гіпергастринемії на тканини слинних залоз щурів за умов стимуляції секреції гістаміном та карбахоліном. Об'єктом дослідження були піднижньощелепні слинні залози та кров щурів.

Матеріали та методи

Експерименти виконані на 55 щурах-самцях лінії Вістар, вагою 180-250г. з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією. Тварин утримували на звичайному раціоні в стандартних умовах віварію. Евтаназію тварин здійснювали під уретановим наркозом. Дослідним тваринам протягом 28 діб внутрішньоочеревинно вводили омепразол ("Sigma",

США) у дозі 14 мг/кг, гістамін (3 мг/кг) та карбахолін (10 мкг/кг) внутрішньоочеревинно окремо та в поєднанні. Контрольним щурам протягом 28 діб внутрішньоочеревинно вводили 0,2 мл води для ін'єкцій. Після завершення експерименту збирали кров для визначення вмісту гастрину радіоімунологічним методом за допомогою аналітичного набору «MP Biomedicals, LLC» (USA). Нами встановлено, що вміст гастрину в плазмі крові щурів контрольної групи на 28 день склав $59,0 \pm 35,5$ пг/мл, порівняно з дослідними тваринами, яким вводили протягом 28 діб омепразол – $170,7 \pm 90,7$ пг/мл ($p < 0,05$). В гомогенаті слинних залоз визначали активність орнітиндекарбоксілази (КФ 4.1.1.17) [11], α -амілази (КФ 3.4.1.1) [3] та NO-синтази (КФ 1.14.13.19), вміст NO_2^- [12].

Результати та їх обговорення

Орнітиндекарбоксілаза каталізує ключову реакцію синтезу поліамінів – декарбоксілювання орнітину з утворенням путресцину, який приймає участь у регуляції біологічних процесів та є попередником синтезу інших поліамінів.

Таблиця 1

Активність орнітиндекарбоксілази та α -амілази в слинних залозах щурів за умов гіпергастринемії та стимульованої секреції. (M \pm m)

Групи тварин	Активність орнітиндекарбоксілази, нмоль/г*хв.		Активність α -амілази, мг/год*г.	
1. Контроль (n=12)	269,01 \pm 8,03		71,95 \pm 2,01	
2. Гістамін (n=5)	214,04 \pm 12,59		68,20 \pm 1,77	
3. Карбахолін (n=5)	261,40 \pm 10,89		64,10 \pm 1,93	
4. Омепразол 28 діб (n=17)	244,52 \pm 10,47		81,78 \pm 2,19	
5. Омепразол 28 діб + гістамін (n=6)	209,06 \pm 8,89		79,27 \pm 1,16	
6. Омепразол 28 діб + карбахолін (n=10)	235,97 \pm 6,73		75,66 \pm 1,07	
	$p_{1-2} < 0,05$	$p_{4-5} < 0,05$	$p_{1-2} > 0,05$	$p_{4-5} > 0,05$
	$p_{1-3} > 0,05$	$p_{4-6} > 0,05$	$p_{1-3} < 0,05$	$p_{4-6} < 0,05$
	$p_{1-4} > 0,05$	$p_{2-5} > 0,05$	$p_{1-4} < 0,05$	$p_{2-5} < 0,05$
	$p_{1-5} < 0,05$	$p_{3-6} < 0,05$	$p_{1-5} < 0,05$	$p_{3-6} < 0,05$
	$p_{1-6} < 0,05$	$p_{2-3} < 0,05$	$p_{1-6} < 0,05$	$p_{2-3} < 0,05$
		$p_{5-6} < 0,05$		$p_{5-6} < 0,05$

З таблиці 1 видно, що на 28 добу введення омепразолу активність орнітиндекарбоксілази знижувалась в 1,1 рази ($p > 0,05$), а за умов поєднаної дії гіпергастринемії та стимуляції секреції гістаміном та карбахоліном – у 1,29 рази ($p < 0,05$) та 1,14 рази ($p < 0,05$) відповідно порівняно з контролем. За умов введення стимуляторів секреції, активність орнітиндекарбоксілази знижувалась в 1,25 рази ($p < 0,05$) при застосуванні гістаміну та у 1,03 рази ($p > 0,05$) при введенні карбахоліну, порівняно зі щурами без стимуляції. Достовірне зниження активності орнітиндекарбоксілази за умов введення гістаміну як окремо, так і в поєднанні з омепразолом свідчить про гальмівний вплив гістаміну на синтез біогенних поліамінів. Також дані, що наведені в таблиці 1 свідчать про зниження активності α -амілази у 1,03 рази ($p > 0,05$) при введенні гістаміну за умов гіпергастринемії та у 1,08 рази ($p < 0,05$) при введенні карбахоліну. Отже, за умов стимуляції секреції гістаміном відбувалося зниження активності орнітиндекарбоксілази, а за умов введення карбахоліну – знижувалась ак-

тивність α -амілази у тканинах слинних залоз щурів. Суттєве зниження активності орнітиндекарбоксілази під дією гістаміну можна пояснити інгібуючим впливом біогенного аміну гістаміну на орнітиндекарбоксілазу, а достовірне зниження активності α -амілази за умов стимуляції карбахоліном пояснюється тим, що холінергічні впливи викликають гіперсекрецію слини багатої на неорганічні речовини з незначним вмістом білків.

Оксид азоту являє собою важливий регулятор фізіологічних функцій в організмі людини та тварин. Оксид азоту утворюється в організмі людини та тварин з амінокислоти аргініну та O_2 під дією НАДФ-залежної NO-синтази (NOS). NO-синтаза у неактивній формі – це мономер, що містить декілька кофакторів і простетичних груп: ФАД, ФМН, тіолатзв'язаний гем, тетрагідрофолат та Ca^{2+} і кальмодулін. При наявності всіх кофакторів фермент димеризується і перетворюється у активну форму. NO-синтаза в організмі існує в різних ізоформах: нейрональна, ендотеліальна та індукційна. Характер біологічної дії NO залежить від локалізації NO-синтази в ор-

ганізмі. Так, у кровоносній і нервовій системах, шлунково-кишковому тракті NO діє через вторинний посередник – цГМФ. Оксид азоту стимулює розчинну гуанілатциклазу, що призводить

до утворення цГМФ, який через активацію протеїнкінази і наступних внутрішньоклітинних реакцій викликає відповідні біологічні ефекти у клітинах-мішенях [4].

Таблиця 2
Активність NO-синтази та вміст нітритів у слинних залозах щурів за умов гіпергастринемії та стимульованої секреції. (M±m)

Групи тварин	Активність NOS, мкмоль [NO ₂]/г*хв		Вміст [NO ₂], мкмоль[NO ₂]/г	
1. Контроль (n=12)	3,97±0,11		0,164 ± 0,007	
2. Гістамін (n=5)	6,33±0,38		0,184 ± 0,004	
3. Карбахолін (n=5)	7,15±0,28		0,195 ± 0,004	
4. Омепразол 28 діб (n=17)	5,76±0,25		0,194 ± 0,006	
5. Омепразол 28 діб + гістамін (n=6)	7,91±0,30		0,202 ± 0,003	
6. Омепразол 28 діб + карбахолін (n=10)	8,82±0,25		0,225 ± 0,003	
	P ₁₋₂ <0.05 P ₁₋₃ <0.05 P ₁₋₄ <0.05 P ₁₋₅ <0.05 P ₁₋₆ <0.05	P ₄₋₅ <0.05 P ₄₋₆ <0.05 P ₂₋₅ <0.05 P ₃₋₅ <0.05 P ₂₋₃ >0.05 P ₅₋₆ <0.05	P ₁₋₂ <0.05 P ₁₋₃ <0.05 P ₁₋₄ <0.05 P ₁₋₅ <0.05 P ₁₋₆ <0.05	P ₄₋₅ >0.05 P ₄₋₆ <0.05 P ₂₋₅ <0.05 P ₃₋₅ <0.05 P ₂₋₃ <0.05 P ₅₋₆ <0.05

Досліджуючи NO-ергічну систему слинних залоз за умов омепразол-індукованої гіпергастринемії та стимуляції секреції гістаміном та карбахоліном, отримали наступні результати (таблиця 2): активність NO-синтази при 28-денному введенні омепразолу підвищилась в 1,45 рази (p<0.05), а вміст нітритів збільшився в 1,18 рази (p<0.05). За умов стимуляції секреції гістаміном та карбахоліном активність NO-синтази на 28 день експерименту підвищилась відповідно у 1,37 рази (p<0.05) та 1,53 рази (p<0.05) порівняно зі щурами без стимуляції, а вміст нітритів при цьому достовірно збільшувався в 1,04 рази при стимуляції гістаміном та в 1,16 рази при стимуляції карбахоліном. Слід також зауважити, що ізольоване введення гістаміну та карбахоліну викликає зростання активності NO-синтази та збільшення вмісту нітритів в тканинах слинних залоз.

Висновок

Отже, стимуляція секреції гістаміном та карбахоліном за умов омепразол-індукованої гіпергастринемії приводить до зниження активності орнітиндекарбоксилази, α-амілази та до зростання активності NO-синтази, та збільшення вмісту нітритів в тканинах слинних залоз. Це свідчить про пригнічення синтезу регуляторних поліамінів, нуклеїнових кислот та білків за умов стимуляції секреції та активації NO-ергічної системи в слинних залозах.

Резюме

АКТИВНОСТЬ ОРНИТИНДЕКАРБОКСИЛАЗЫ, α-АМИЛАЗЫ И NO-ЭРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГАСТРИНЕМИИ И СТИМУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ ГИСТАМИНОМ И КАРБАХОЛИНОМ
Сухомилин А.А., Непорада К.С.

Ключевые слова: слюнные железы, омепразол, гипергастринемия, оксид азота, полиамины, гистамин, карбахоллин.

Целью исследования было изучение влияния гипергастринемии в условиях стимуляции секреции на ткани слюнных желез крыс. Эксперименты выполнены на 55 крысах линии Вистар. В гомогенате слюнных желез определяли активность орнитиндекарбоксилазы, α-амілазы, NO-ергіческой системы и содержание нитритов. В условиях омепразол-индуцированной гипергастринемии в сочетании со сти-

Література

1. Гусейнов Г.О. Роль полиаминов в защите организма при экстремальных воздействиях / Гусейнов Г.О., Исмаилов И.А. // Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии: Сборник научных работ. – Томск, 2004. – С.412-414
2. Денисов А.Б. Слюнные железы. Слюна. Часть 2 Методы моделирования физиологических и патологических процессов / Денисов А.Б. – М.: Издательство РАМН, 2003. – 60 с.
3. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике / В.В.Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотиницкая [и др.] – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
4. Мещишен І.Ф. Біомолекули: структура та функції / І.Ф.Мещишен, В.П.Пішак, Н.П.Григор'єва. – Чернівці: Медик, 1999. – 149 с.
5. Реутов В.П. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, В.Е. Охотин, Н.С. Косицин // М.: Наука, 1998. – 159 с.
6. Степанов Ю.М. Содержание гастрин в сыворотке крови больных с различными формами рака желудка / Ю.М. Степанов, Н.Е. Кушлинский, И.И. Гриценко [и др.] // Онкология. – 2000. – Т.2, №1-2. – С.43-46
7. Сукманский О.И. Биологически активные вещества слюнных желез / Сукманский О.И.// К.: Здоровья, 1991. – 112 с.
8. Тарасенко Л.М. Слюнные железы (биохимия, физиология, клинические аспекты) / Тарасенко Л.М., Суханова Г.А., Мищенко В.П., Непорада К.С. – Томск: Издательство НТЛ, 2002. – 124 с.
9. Ткаченко М.М. Оксид азоту та судинна регуляція (огляд літератури) / М.М.Ткаченко // Журн. АМН України. – 1997. – Т.3, №2. – С. 241-254.
10. Халтурин В.Ю. Клиническая оценка роли гастринемии и чувствительности к гастрину при раке толстой кишки / В.Ю. Халтурин, В.Б. Гамаюнова, Л.М. Берштейн // Вопр. онкологии. – 1997. – Т.43 (6). – С.575-579.
11. Храмов В.А. Простой метод определения активности орнитиндекарбоксилазы в смешанной слюне человека / В.А. Храмов. // Клин. лаб. диагностика. – 1997. - №4. – С.14-15
12. Hevel J.M. Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase / Hevel J.M. // J. Biol. Chem.. – 1991. – V.266, №34. – P.22.
13. Morgan David M.L. Polyamine Protocols / Morgan, David M.L. // Humana Press Inc. Totawa. Methods in Molecular Biology.- 1997.- V. 79. - 183 p.
14. Olbe L. Effect of omeprazole on gastric acid secretion and plasma gastrin in man / L.Olbe, C.Cederberg, T.Lind, M.Olausson // Scand J.Gastroenterology. – 1989. – V.24. – P.27-32.
15. Pacher P. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease / Pál Pacher, Joseph S. Beckman, Lucas Liaudet. // Physiol. Rev.. – 2007. – V.87. – P.315-424.

муляцией секреции гистамином и карбахолоном развиваются следующие изменения: снижение активности орнитиндекарбоксилазы, α -амилазы и активация NO-эргической системы. Это свидетельствует об угнетении синтеза регуляторных полиаминов, нуклеиновых кислот и белков в условиях стимуляции секреции и активации NO-эргической системы в слюнных железах.

Summary

ACTIVITY OF ORNITINDE CARBOXYLASE, α -AMYLASE AND NO-ERGIC SYSTEM OF SALIVARY GLANDS UNDER HYPERGASTRINEMIA AND THE STIMULATIONS OF SECRETION BY HISTAMINE AND CARBACHOLINE

Sukhomlyn A.A., Neporada K.S.

Keywords: salivary glands, omeprazole, hypergastrinemia, polyamines, NO-ergic system, carbocholine, histamine.

The research was aimed to study the effect of hypergastrinemia under the secretory stimulation on salivary gland tissues of rats. Experiments were carried out on 55 Wistar rats. Homogenates of salivary glands were studied for the detection of the activity of ornithinedecarboxylase, α -amylase, NO-ergic system and for the nitrite contents. Under the omeprazole-induced hypergastrinemia associated with the secretory stimulation by histamine and carbocholine the following changes develop: the decrease of ornithinedecarboxylase, α -amylase activity and the activation of NO-ergic system. It testifies to the suppression in the synthesis of regulative polyamines, nucleic acids and proteins under the secretory stimulation in salivary glands.

УДК:616.681-002-018-089.843:611.013.85

МОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ПРОТЯГОМ РОКУ ПРИ ОДНОРАЗОВІЙ ПІДШКІРНІЙ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ

Шепітько К.В., Стецюк Е.В., Томаш Б.В.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

В результаті проведених досліджень на 65 щурах-самцях лінії Вістар виявлено, що при проведенні підшкірної трансплантації кріоконсервованої плаценти в інтерстиційній тканині сім'яників починаючи з 7-ї до 60-ї доби експерименту виникає більш виражена функціональна напруга, яка характеризується покращенням гемомікроциркуляції, збільшенням кількості клітин Лейдига та об'єму їх цитоплазми. З 7 доби експерименту в звивистих каналцях визначається поступове збільшення кількості шарів і клітин сперматогеного епітелію з максимально вираженим ефектом на 60-у добу.

Ключові слова: кріоконсервована плацента, підшкірна трансплантація кріоконсервованої плаценти, сім'яники.

Трансплантологія, як відомо є однією з найбільш проблемних, залежно від медичної етики дисципліною, що потребує чіткої ідентифікації антигенного спектру матеріалу, що пересаджується та його узгодження з антигенами гістосумісності реципієнта, імуносупресивності останнього і т.д. [1,3,4].

Головні з цих проблем може вирішити відносно нова і водночас маюча історичний досвід клітинна і тканинна трансплантологія. Перевагою використання тканинних і клітинних трансплантатів є те, що пацієнт одержує збалансовані сполуки природного походження, які впливають на метаболізм цілісного організму, а також клітини, здатні виконувати замінні функції. Терапевтичний ефект ґрунтується на тому, що при введенні в організм реципієнта фетальних клітин і тканин відбувається активація спеціалізованих клітин, відновлення клітинного і тканинного гомеостазу. Після імплантації деконсервованого фрагмента тканини плаценти в організм реципієнта вводиться комплекс клітин, які певний час продукують природні гормони, ферменти, цитотій інтерлейкіни, інтерферон, фактор росту тощо [2,5,6].

Нашу увагу привернула до себе кріоконсерво-

вана плацента як можливий імплантаційний матеріал із кількох причин. Плацента є могутнім джерелом системних білкових і стероїдних гормонів, цитомединів, імунних факторів і АТФ, які володіють могутньою фізіологічною дією [4,5,10].

Другою важливою властивістю плаценти є її дія як тимчасового імунного і ендокринного органу. Це імуносупресивний ефект (деякі глікопротеїди), але, крім цього, синтезуються імуностимулятори і плацентарні імуноглобуліни. Отже роль плаценти як матеріалу для трансплантації – це джерело гормонів і імуномодуляторів [5,9].

Метою експериментального дослідження було вивчення морфологічних змін в структурі сім'яників при одноразовій підшкірній трансплантації плаценти.

Дослідження було проведене на 55 статевозрілих щурах-самцях лінії «Вістар» [7], 45 тварин, яким одноразово була проведена трансплантація кріоконсервованої плаценти. Евтаназія щурів була проведена після 2-ї, 7-ї, 10-ї, 14-ї 21-ї 30-ї 60-ї 120-ї 360-ї доби експерименту, 10 тварин склали контрольну групу. Після евтаназії тварин матеріал тканини сім'яників заключали в ЕПОНові-812 блоки [8], виготовленні напівтонкі зрізи вивчали в світловому мікроскопі фірми

** Робота є фрагментом НДР „Розробка нових кріобіологічних технологій, використання кріоконсервованих ембріональних клітин, тканин людини та тварини в медицині”, № державної реєстрації 0199U000323*