

УДК 616.33–092.9:616.8–009

О.Є. Омельченко

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ВМІСТУ НІТРИТІВ ТА СТАНУ МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА У ЩУРІВ З РІЗНИМ ТИПОМ РЕАГУВАННЯ ЗА УМОВ ГОСТРОГО СТРЕСУ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» м. Полтава, кафедра медичної, фізико-колоїдної, біоорганічної та біологічної хімії.

Ключові слова: гострий стрес, виразки шлунка, гемоциркуляція, слизова оболонка шлунка, оксид азоту

Вступ. Згідно даним ряду авторів, частота стресу як фактора ризику виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки складає 95,6%, тоді як інші фактори відіграють значно меншу роль, а саме: інфікування *Helicobacter pylori* – 66,3%, незбалансованість та порушення харчового режиму – 53,2% [6, 7].

Виразки шлунка є одним із компонентів „тріади” Г. Сельє, що використовується в якості критерію тяжкості стресу та резистентності організму до стресорних впливів [10].

Виразки шлунка при гострому стресі вважають наслідком ішемічних “лінійних інфарктів” слизової оболонки [14]. Але, незважаючи на великий потік інформації стосовно впливу стресорних чинників на ульцерогенез шлунка, недостатньо вивченим залишається питання про участь порушень гемоциркуляції в його патогенезі.

Для розкриття ролі судинного фактора у механізмі розвитку стресорних виразок шлунка ми досліджували стан мікроциркуляторного русла у слизовій та підслизовій оболонках шлунка залежно від типу реагування організму на стресорні чинники та визначали вміст стабільних метаболітів NO – нітритів у гомогенаті слизової оболонки шлунка (СОШ). Шлунок відзначається високою чутливістю до стресорних впливів, що може бути обумовлено органоспецифічними функціями СОШ, пов'язаними з високим рівнем кровопостачання та енерговитрат.

Ендотеліальний фактор, що регулює судинний тонус – оксид азоту (NO), відноситься до одного із компонентів стрес-лімітуючої системи [4, 7]. Він синтезується з L-аргініну в результаті комплексної окислювальної реакції, що каталізується родиною ферментів NO-синтаз: NOS-1 (нейрональна), NOS-2 (індуцибельна) та NOS-3 (ендотеліальна) [5].

NO є потужним вазодилататором та ключовим фактором регуляції шлункового кровотоку. Зниження локальної продукції NO призводить до зменшення об'єму шлункового кровотоку та створює передумови для порушення цілісності СОШ [8].

Накопичено чимало фактів про роль генетичної схильності до стресорних виразок, що обумовлює неоднакову резистентність до утворення виразок СОШ у тварин різних генетичних ліній. Нейрохімічну основу цих відмінностей складає ступінь активації адренергічного ланцюга та вазоконстрикторного впливу катехоламінів. Рядом досліджень обґрунтована роль типологічних особливостей організму у розвитку стресорних виразок шлунка [11].

Метою даного дослідження є вивчення стану мікроциркуляції слизової та підслизової оболонок шлунка та вмісту метаболітів оксиду азоту – нітритів у слизовому гелі за умов гострого стресу у щурів з різними типами реагування.

Матеріали та методи. Експерименти виконані на 68 статевозрілих щурах-самцях Вістар масою 180-220 г. Гострий емоційний стрес моделювали за методом Г. Сельє [10]. Типологічні особливості тварин визначали у нейроетологічному тесті „відкрите поле” з використанням факторно-аналітичного методу [3]. Щурів розподіляли на дві групи: стресостійкі (середня та мала рухливість і дослідницька активність, висока швидкість адаптації та низький рівень тривоги) та стресонестійкі (висока рухливість та дослідницька активність, мала швидкість адаптації в поєднанні з підвищеною тривожністю) (табл. 1).

Таблиця 1. – Показники тесту «відкрите поле» у щурів з різним типом реагування ($M \pm m$)

Показники тесту «відкрите поле»	Тип реагування		P
	Стресостійкий (n=34)	Стресонестійкий (n=34)	
1. Кількість виходів у центр	0,12±0,04	1,95±0,52	<0,01
2. Горизонтальна активність	28,42±3,24	102,52±10,18	<0,001
3. Кількість стійок	1,86±0,54	9,44±0,76	<0,001
4. Час перебування в центрі майданчика (з початку тестування), сек.	0,87±0,09	3,08±0,93	<0,05
5. Латентний період першого переміщення, сек.	0,48±0,11	0,96±0,18	<0,05
6. Тривалість вмивань, сек.	4,3±0,82	21,07±3,71	<0,001
7. Показники вегетативного балансу (болюси та уринації)	0,2±0,05	4,25±0,65	<0,001

Контролем слугували інтактні тварини з відповідним типом реагування.

Евтаназію тварин здійснювали шляхом кровопускання під гексеналовим наркозом (50 мг/кг) через 2 години після завершення стресорного впливу. Виразкоутворення СОШ визначали на підставі частоти (число тварин з наявністю виразок), множинності (кількість виразок на 1 тварину) та площі виразок шлунка [9]. Для оцінки стану NO-регулюючої системи в гомогенаті СОШ визначали вміст стабільних метаболітів монооксиду азоту – нітритів [2]. Матеріалом для морфологічного дослідження слугували фрагменти стінки шлунка тварин, які фіксували у 10% водному розчині нейтрального формаліну. Серійні зрізи товщиною $4-5 \times 10^{-6}$ м фарбували гематоксиліном та еозином. Морфо- та стереометричну оцінку проводили методом “полів” [1]. Морфометричне дослідження включало кількісну оцінку судин мікроциркулярного русла в обмеженому полі зору та середній діаметр судин (артеріол, капілярів та венул) в слизовій та підслизовій оболонках шлунка. Для визначення співвідношення між строною та судинами в досліджуваних групах визначали середній відносний об’єм строми та стромально-судинний коефіцієнт для кожної з оболонок шлунка. Отримані результати піддавали математико-статистичному аналізу з використанням критерію t Ст’юдента.

Результати та їх обговорення. Гострий емоційний стрес викликає розвиток виразок шлунка у 100% тварин стресонестійкого типу, при цьому множинність виразок дорівнювала $3,66 \pm 0,4$, а площа виразок – $9,33 \pm 1,72$ мм². За цих умов показники ушкодження СОШ в групі стресостійких щурів були значно меншими порівняно з групою щурів стресонестійкого типу (67%, $1,77 \pm 0,32$ та $2,66 \pm 0,58$ мм² відповідно; $p < 0,05$). В контрольних групах тварин патологічних змін слизової оболонки шлунка не спостерігали.

Вміст нітритів у слизовому гелі шлунка у щурів стресонестійкого типу за умов гострого стресу достовірно знизився в 1,6 разів, а у щурів стресостійкого типу – в 1,9 разів порівняно з контролем відповідного типу (табл. 2), що може опосередковано свідчити про зниження продукції NO у СОШ, так як відомо, що в синтезі оксиду азоту беруть участь також епітеліальні клітини СОШ [13].

Таблиця 2. – Вміст нітритів у слизовій оболонці шлунка щурів різних типів реагування за умов гострого стресу ($M \pm m$)

Характер дослідів	Контроль		Стрес	
	стресонестійкі (n=8)	стресостійкі (n=8)	стресонестійкі (n=8)	стресостійкі (n=8)
Показник				
Вміст нітритів, мкмоль/г	0,89±0,06	1,05±0,07	0.56±0,06*	0,54±0,08*

*достовірна різниця між контрольною і дослідною групами відповідного типу реагування ($p < 0,05$)

Звертає на себе увагу різниця між вихідним рівнем метаболітів NO у контрольних щурів обох типів (табл. 2). У стресостійких тварин він достовірно вищий порівняно із групою стресонестійких щурів, що, можливо, впливає на розвиток адаптаційних реакцій в СОШ до гострого стресу.

При морфометричному дослідженні мікроциркуляторного русла слизової оболонки шлунка у щурів стресостійкого та стресонестійкого типів при гострому стресі спостерігали достовірне зменшення кількості капілярів і венул на одиницю площі, а також їх діаметру та об'єму порівняно з контролем (табл. 3).

Таблиця 3. – Морфометричні показники мікроциркуляторного русла слизової оболонки шлунка стресостійких та стресонестійких щурів, ($M \pm m$)

Параметри	Кількість судин на одиницю площі		Діаметр судин		Об'єм строми	Об'єм судин	Індекс строма/судини
	Венули	Капіляри	Венули	Капіляри			
Групи щурів							
Стресостійкі (контроль) n= 9	5,85 ±0,27	18,05 ±0,31	15,59 ±0,44	8,73 ±0,17	13,15 ±1,53	23,85 ±0,59	0,55
Стресостійкі (гострий стрес) n= 9	4,55* ±0,23	14,6* ±0,43	12,13* ±0,64	7,85* ±0,30	18,7 ±0,79	19,15 ±0,55	0,98
Стресонестійкі (контроль) n= 9	5,09 ±0,35	17,86 ±0,49	22,15 ±0,57	11,52 ±0,29	17,75 ±0,91	22,95 ±0,56	0,77
Стресонестійкі (гострий стрес) n= 9	5,15 ±0,30	11,9* ±0,33	8,92* ±0,25	5,50* ±0,27	20,65 ±0,97	17,05 ±0,51	1,21

*достовірна різниця між дослідною і контрольною групами відповідного типу реагування ($p < 0,05$)

Відповідно при гострому стресі достовірно збільшилось в 1,6-1,8 разів співвідношення “об’єм строми/об’єм судин” СОШ. Ознаки локальної ішемії СОШ при гострому стресі у щурів стресостійкого типу були значно меншими порівняно з тваринами стресонестійкого типу. Кількість капілярів на одиницю площі в групі стресостійких тварин зменшилась в 1,2 разів, а у тварин стресонестійкого типу – в 1,5 разів порівняно з відповідними типами контрольних груп. Діаметр капілярів СОШ у стресонестійких тварин під впливом стресу вірогідно зменшився в 2,1 разів, венул – в 2,5 разів, тоді як в групі тварин стресостійкого типу за цих умов лише в 1,1 та в 1,3 рази відповідно. Отже, гострий стрес обмежує кровопостачання СОШ, яке, за даними літератури, становить 75% від загального кровотоку шлунка [12].

Більш виражені зміни гемоциркуляції залежно від стресостійкості тварин спостерігалися в підслизовому шарі порівняно із слизовим шаром шлунка (табл. 4).

Таблиця 4. – Морфометричні показники мікроциркуляторного русла підслизової оболонки шлунка стресостійких та стресонестійких щурів, (M±m)

Параметри Групи щурів	Кількість судин на одиницю площі			Діаметр судин			Об’єм строми	Об’єм судин	Індекс строма/судини
	Артеріоли	Венули	Капіляри	Артеріоли	Венули	Капіляри			
Стресостійкі (контроль)n= 9	12,20 ±0,38	24,05 ±0,40	13,10 ±0,36	45,22 ±0,39	17,54 ±0,31	8,15 ±0,32	50,65 ±0,94	49,35 ±0,94	1,03
Стресостійкі (гострий стрес) n= 9	9,00* ±0,53	22,05* ±0,48	12,85 ±0,45	41,05* ±0,44	15,09* ±0,41	7,86 ±0,18	64,40 ±0,51	35,60 ±0,51	1,80
Стресонестійкі (контроль)n= 9	9,45± 0,35	17,80 ±0,38	8,35 ±0,27	44,47 ±0,59	21,40 ±0,49	11,74 ±0,23	56,10 ±0,48	43,90 ±0,48	1,28
Стресонестійкі (гострий стрес) n= 9	4,60* ±0,30	9,55* ±0,40	5,25* ±0,36	22,64* ±0,29	11,16* ±0,35	6,60* ±0,18	80,60 ±0,69	19,40 ±0,69	4,15

*достовірна різниця між контрольною і дослідною групами відповідного типу реагування (p<0,05)

При гострому стресі на тлі достовірного зменшення кількості артеріол і венул на одиницю площі, їх діаметру та об’єму у тварин стресостійкого типу спостерігалось збільшення в 1,7 рази індексу “об’єм строми/об’єм судин” підслизової оболонки шлунка, а у щурів стресонестійкого типу – в 3,2 рази порівняно з контролем. За цих умов в підслизовому шарі шлунка кількість артеріол на одиницю площі та їх діаметр у щурів стресостійкого типу вірогідно зменшився в 1,3 та 1,1 рази, а у тварин стресонестійкого

типу – в 2,1 та 2 рази відповідно порівняно з контролем. У тварин стресостійкого типу спостерігалось вірогідне зменшення в 1,1 та 1,2 разів кількості та діаметру венул відповідно, тоді як у тварин стресонестійкого типу – в 1,9 разів (обох показників) порівняно з контролем.

Загалом за даними морфометричного дослідження слизової оболонки та підслизового шару шлунка реакція на гострий стрес венозного русла більш вираженою порівняно з артеріальним (табл. 3, 4).

Отже, є підстави розглядати механізм розвитку виразок шлунка при гострому стресі як наслідок ішемії СОШ із-за порушення центральної та локальної регуляції судинного тонусу.

Висновки:

1. Ульцерогенний вплив гострого стресу у щурів стресонестійкого типу більш виражений порівняно з стресостійким типом.
2. Одним із механізмів ішемії та розвитку стресорних виразок СОШ є зменшення вмісту нітритів – метаболітів оксиду азоту.
3. Паралелізм тяжкості стресорних виразок та гемоциркуляторних змін слизової оболонки шлунка, залежно від типу реагування тварин на гострий стрес, переконливо обґрунтовує роль ішемії в генезі стресорних виразок шлунка та їх взаємозв'язок зі стресостійкістю організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Компьютерная микротелефотометрия в диагностической гистоцитопатологии / Автандилов Г.Г. – М.:, 1996. – 133 с.
2. Голиков П.П. Метод определения нитрита/нитрата (NOx) в сыворотке крови / П.П. Голиков, Н.Ю. Николаева // Вопр. биомед. химии – 2004. - №1. – С. 79-85.
3. Майоров О.Ю. Прогнозування індивідуальної стійкості білих щурів до експериментальних емоціональних стресів за даними нейроетологічних показників в тесті „відкритого поля” / О.Ю. Майоров // XII з’їзд Укр. фізіол. т-ва ім. І.П. Павлова: Тез. доповід. – Львів, 1986. – С. 250.
4. Малышев И.Ю. Стресс, адаптация и оксид азота / И.Ю. Малышев, Е.Б. Манухина // Биохимия. – 1998. – Т. 63, №7. – С. 992-1006.
5. Марков Х.М. О биорегуляторной системе L-аргинин - окись азота (обзор) / Х.М. Марков // Патол. физиол. и эксперим. тер.- 1996.- №1.- С.34-39.
6. Новикова И.А. Основные факторы риска развития психосоматических заболеваний / И.А. Новикова, П.И. Сидоров, А.Г. Соловьев // Тер. архив. – 2007. - № 1. – С. 61-64.
7. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М.Г. Пшенникова // Патол. физиол. и эксперим. терапия – 2000. – №2. – С. 24-31.
8. Пшенникова М.Г. Оксид азота как фактор генетически детерминированной устойчивости к стрессорным повреждениям и адаптационной защиты / М.Г. Пшенникова, Н.А. Бондаренко, М.В. Шимкович // Бюл. эксперим. биологии и медицины – 2001. – Т. 132, №11. – С. 510-513.
9. Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным воздействиям повышает устойчивость к повреждениям желудка при остром стрессе у крыс популяции Вистар и снижает устойчивость у крыс линии Август: роль серотонина / М.Г. Пшенникова, Е.В. Попкова, М.В. Шимкович // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – №10. – С. 383-386.
10. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Селье Г. – М.: Медицина, 1960. – 254 с.
11. Тарасенко Л.М. Индивидуальные особенности стрессорной реакции органов пищеварения, связанные с типом реагирования нервной системы / Л.М. Тарасенко, К.С. Непорада, И.Н. Скрыпник [та ін.] // Архив клин. и эксперим. мед. – 2000. - Т. 9, № 1, - С. 103-105.
12. Успенский В.М. Функциональная морфология слизистой оболочки желудка / Успенский В.М. – Л.: Наука. 1986. – 291 с.

13. Berg A. Morphological support for paracrine inhibition of gastric acid secretion by nitric oxide in humans /A. Berg, S. Kechagias, S.E. Sjostrand [et al.] // Scand. J. Gastroenterol. – 2001. – V.36, №10. – P.1016-1021.
14. Desiderato O. Development of gastric ulcers in rats following stress termination / O. Desiderato , J. MacKinnon, H. Hissom // J. Comp. Physiol. Psychol. – 1974. – Vol. 87. – P. 208-214.

ВЗАИМОСВЯЗЬ КОНЦЕНТРАЦИИ НИТРИТОВ И СОСТОЯНИЯ
МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА У КРЫС С РАЗНЫМ
ТИПОМ РЕАГИРОВАНИЯ ПРИ ОСТРОМ СТРЕССЕ

Омельченко А.Е.

ВГУЗ УКРАИНЫ “УМСА”, г.Полтава,

Ключевые слова: острый стресс, язвы желудка, гемоциркуляция, слизистая оболочка желудка, оксид азота

Резюме

Исследовано состояние кровотока в слизистой оболочке та подслизистом слое желудка крыс с разным типом реагирования в условиях острого стресса. Доказана роль нарушений гемодинамики в генезе стрессорных язв желудка и их взаимосвязь с концентрацией нитритов в слизистой оболочке желудка, которая взаимосвязана со степенью нарушения гемоциркуляции и тяжестью стрессорных язв, что подтверждает их ишемическую природу.

RELATIONSHIP BETWEEN CONCENTRATION OF NITRITES AND STATE OF
MICROCIRCULATION IN GASTRIC MUCOSA IN RATS WITH DIFFERENT REACTION
TYPES AT ACUTE STRESS CONDITIONS

Omelchenko O.

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava

Key words: acute stress, gastrics ulcers, hemocirculation, gastric mucosa, nitric oxide.

Summary

States of blood circulation in the gastric mucosa and undermucosal layer in rats with different reaction types at acute stress conditions were examined. A role of hemodynamic disorders in the genesis of stress-related gastric ulcers and their relation to nitrite concentration in the gastric mucosa that correlates with degree of hemocirculation infringements and severity of the stress ulcers, suggesting their ischemic nature, was proven.