

Перспективи дальніших досліджень. Полученные данные позволяют расширить наши представления о развитии целого ряда патологических состояний и могут служить основой для будущих исследований.

Список литературы

1. Бурых М. П. Клиническая анатомия мозгового отдела головы / М. П. Бурых, И. Е. Григорова // – Харьков, - 2002. – 240 с.
2. Вовк Ю. Н. Хирургическая анатомия парасагиттальной зоны лобно-теменно-затылочной области / Ю. Н. Вовк, Д. Б. Беков, Д. А. Ткаченко // Научн. тр. Луган. гос. мед. универ. и врачей практ. здравоохр. –Луганск, - 1997. – С. 12-19.
3. Вовк Ю. Н. Клиническая анатомия головы / Ю. Н. Вовк // - Луганск: Элтон-2, - 2010. - 194 с.
4. Коновалов А. Н. Атлас нейрохирургической анатомии / А. Н. Коновалов // – АМН СССР – М., Медицина, - 1990. – 362 с.
5. Ким В. И. Особенности макро- и микроанатомической конструкции твердой мозговой оболочки внутреннего основания черепа человека / В. И. Ким //– СПб. – 1998. – С. 152-153.
6. Ким В. И. Микрохирургическая анатомия твердой оболочки головного мозга на внутреннем основании черепа: автореф. дис. докт. мед. наук : 14.00.02 «Нормальная анатомия» / В. И. Ким. – Уфа, - 2008. – 34 с.
7. Cooper G. M. Testing the critical size in calvarial bone defects: revisiting the concept of a critical-size defect / G. M. Cooper, M. P. Mooney, A. K. Gosain [et al.] // Plast Reconstr Surg. – 2010. – Vol. 125(6). – P.1685-1692.
8. Jivraj K. Diploic venous anatomy studied in-vivo by MRI / K. Jivraj, R. Bhargava, K. Aronyk [et al.] // Clin Anat. – 2009. – Vol. 22(3). – P.296-301.
9. Martins C. Microsurgical anatomy of the dural arteries / C. Martins, A. Yasuda, A. Campero [et al.] // Neurosurgery. – 2005. – Vol. 56. – P. 211-251.

Рефераты

ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОВІДНОСИН КІСТОК СКЛЕПІННЯ ЧЕРЕПА З ТВЕРДОЮ ОБОЛОНОЮ ГОЛОВНОГО МОЗКУ У ДОРОСЛИХ ЛЮДЕЙ

Вовк О. Ю., Ікрамов В. Б., Шмаргальов А. О.

Робота присвячена вивченню морфо- і краніометричних особливостей взаємовідносин кісток склепіння черепа з твердою оболоню головного мозку у дорослих людей з позиції індивідуальної анатомічної мінливості.

Ключові слова: склепіння черепа, тверда оболоня головного мозку, індивідуальна анатомічна мінливість, дорослі люди.

Стаття надійшла 4.09.2014 р.

THE RELATIONS OF VAULT OF SKULL BONES WITH THE DURA MATTER OF BRAIN FOR ADULT HUMANS

Vovk O. Yu., Ikramov V. B., Shmargalev A. A.

The article is devoted the study of morpho- and craniometric features of relations of vault of skull bones with the dura matter of brain for adult persons from position of individual anatomic variability.

Key words: vault of skull, dura matter of brain, individual anatomic variability, adult humans.

Рецензент Попов О.Г.

УДК 591.475+546.17+616.342

А. А. Галинский, И. Ю. Ошмянская, В. А. Макарыч, Е. В. Севериновская, А. И. Руденко
ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», Днепропетровский национальный университет им. О. Гончара, г. Днепропетровск

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ У КРЫС ПРИ ДИСБАЛАНСЕ ОКСИДА АЗОТА

В работе исследованы изменения морфологической структуры и распределения эндотелиальной и индуцибельной NO-синтазы (eNOs и iNOs) слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки (ДПК) крыс, вызванные 6 и 12-ти дневным введением нитропрусида натрия и N-нитро-L-аргина. При длительном избытке NO отмечалась атрофия секреторных желез желудка с компенсаторным снижением уровня eNOs и повышением его в ДПК, что сопровождается элиминацией iNOs+ клеток в исследуемых отделах. Дефицит NO приводит к нарушению структуры желез желудка и к тканевой эозинофилии при повышенном уровне iNOs, eNOs, как в слизистых, так и в G-клетках желез. Дисбаланс в NO-эргической системе приводит к нарушению адаптационно-компенсаторных механизмов, приводящих к изменениям в NO-синтазной активности, нарушению функционального состояния гастродуоденальной зоны и потере целостности морфоструктуры слизистой оболочки желудка.

Ключевые слова: слизистая оболочка желудка, двенадцатиперстная кишка, оксид азота.

Работа является фрагментом НИР “Изучить механизмы развития фиброзных процессов при хроническом панкреатите и усовершенствовать технологии их хирургической коррекции” (№ гос. регистрации 0111U001065).

Оксид азота (NO) представляет собой мембранно-проницаемый газообразный вторичный мессенджер, участвующий в сигнальной трансдукции. Физиологические функции NO были показаны в разных типах клеток и тканей, в том числе в эндотелиальных клетках, нейронах, клетках иммунной системы и кровеносных сосудов. NO функционирует в центральной и автономной нервной системе, регулирует деятельность органов дыхательной и мочеполовой системы, желудочно-кишечного тракта. Молекула NO является одной из самых мелких известных молекул – биологических мессенджеров [26]. Благодаря химической простоте, ее эффекты могут регулироваться исключительно концентрацией и стабильностью. NO легко проникает через мембраны клеток, не нуждаясь в участии

каналов или рецепторов, а инициированный NO сигнальный период достаточно короткий, поскольку молекула быстро окисляется с переходом в нитриты и нитраты, поэтому биологические эффекты NO ограничены местом возникновения [20]. NO также относится одновременно к аутокринным и паракринным медиаторам, поскольку, будучи синтезированным в любых клетках, он способен влиять на метаболические процессы, как в этих клетках, так и в расположенных по соседству [27].

NO действует во всех направлениях, является универсальным регулятором физиологических функций и передачи нервных импульсов, мощным вазодилататором, протектором слизистой оболочки, регулятором моторики и секреции в желудочно-кишечном тракте [25]. Основными первичными задачами в исследовании роли NO было изучение его релаксирующего действия на гладкую мускулатуру, которое связано с активацией растворимой гуанилатциклазы и накоплением циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ). Повышенная концентрация ГМФ активирует цГМФ-зависимую протеинкиназу и АТФазу, участвующих в дефосфорилировании легких цепей миозина, что приводит к выходу кальция из мышечных клеток и в результате – к вазодилатации [5]. Возможными мишенями для NO являются растворимый аденозиндифосфат-рибозилирующий фермент и факторы транскрипции, через которые NO может непосредственно влиять на транскрипцию генов и трансляцию информационной РНК [18].

Значительное количество исследований посвящено роли NO в желудочно-кишечном тракте [24]. На сегодняшний день изучаются особенности моторно-эвакуаторной функции органов пищеварения, молекулярные механизмы развития нарушений в гладких мышцах органов пищеварения, развитие эрозивно-язвенных поражений при дисбалансе системы L-аргинин/NO/NO-синтазы (NOs) как одного из ключевых факторов в развитии этих нарушений. По данным авторов [4], NO как активный вазодилататор способен обеспечить значительное увеличение кровоснабжения слизистой оболочки желудка. При этом доноры NO не имея существенного влияния на базальную желудочную секрецию, могут модулировать стимулированную кислоту [9]. В свою очередь, повышение уровня NO, вызванное однократным введением его доноров, вызывает стимуляцию продукции гликопротеинов и бикарбонатов и, таким образом, повышают защитные свойства слизистой оболочки желудка.

Зависимость показателей метаболизма NO от активности воспалительного процесса, протекания, степени повреждения слизистой оболочки указывают на его значение в патогенезе заболеваний желудочно-кишечного тракта [13].

Несмотря на то, что многими авторами показана его протекторная роль, известно, что NO способен вызвать и клеточные повреждения, что частично объясняется его радикальной природой. Негативное действие NO начинает проявляться, когда его суммарное количество либо резко снижается, либо возрастает, приводя к функциональному и структурному повреждению органа [18, 28]. Кроме того, усиленная инактивация или недостаточный синтез NO, вызванные нарушением системы NOs, индуцируют оксидативный стресс, вызванный дисбалансом между активностью эндогенных проокислительных ферментов и антиоксидантами [23]. В последнее время проводится широкий спектр исследований и разработок новых терапевтических стратегий в лечении системных патологий на основе молекулярного и клеточного действия NO [17].

В физиологических условиях синтез NO из L-аргинина происходит с помощью ферментов NOs, вторым продуктом данной реакции является L-цитруллин. NOs – единственные известные на данный момент ферменты, которые используют в этом процессе одновременно 5 кофакторов (флавинадениндуклеотид, флавиномононуклеотид, гем, тетрагидриобиптерин и кальций/кальмодулин), являясь таким образом одними из самых регулируемых в природе ферментов [5]. Все три изоформы NOs представлены в разных типах клеток желудочно-кишечного тракта (эпителиальные клетки, макрофаги, нейроны, гепатоциты, фибробласты, эпителиальные и гладкомышечные клетки) [29]. Широкое распространение NOs-зависимой передачи сигнала обусловило зависимость от него кровоснабжения, поддержания целостности слизистой оболочки, моторики, секреции, электролитного и водного баланса, а также воспаления. В целом нейрональная NO-синтаза (nNOs) преимущественно синтезируется в нейронах, эндотелиальная NO-синтаза (eNOs) – в сосудистой эндотелии, а индуцибельная NO-синтаза (iNOs) – в макрофагах. Однако nNOs можно так же обнаружить в поперечнополосатых и гладкомышечных клетках, нейтрофилах, панкреатических островках и эпителии, eNOs – в гладкомышечных клетках и нейронах, а iNOs – в нейронах, эндотелии и других типах клеток после индукции медиаторами воспаления [26].

Установить точную роль изоформ NOs в желудочно-кишечном тракте сложно в связи с тем, что они локализируются в одинаковых тканях, а также из-за недостатка действительно специфичных и селективных NOs ингибиторов. Хотя NO является одной из наиболее изученных в

биомедицинских исследованиях молекул, однако его роль в физиологии и патофизиологии желудочно-кишечного тракта окончательно не раскрыта [15].

Целью работы было исследование морфологической структуры и распределение eNOs и iNOs в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишке (ДПК) при дисбалансе оксида азота.

Материал и методы исследования. Экспериментальное исследование проводили на 100 белых лабораторных крысах-самцах (возрастом – 6-8 месяцев, весом 200-230 г). Крысы находились на стандартном рационе вивария при свободном доступе к воде и пище, с естественной сменой освещения. Перед началом эксперимента, для уменьшения погрешностей, вызванных индивидуальной чувствительностью к влиянию экстремальных факторов, животных тестировали на устойчивость к гипобарической гипоксии. Экспериментальные группы были сформированы из среднестойких к недостатку кислорода особей: I группа (n=40) – животные, которым вводили нитропруссид натрия (“РЕАХИМ”, Россия) в дозе 1,5 мг/кг в 2,0 мл 0,9% раствора NaCl; II группа (n=40): – животные, которым вводили NG-нитро-L-аргинина (“Sigma-Aldrich”, USA) в дозе 40 мг/кг в 2,0 мл 0,9% раствора NaCl; III группа (n=20): – контрольные животные, им вводили 2 мл 0,9% раствора NaCl.

Введение веществ проводили интраперитонеально (в нижнюю часть брюшной стенки), все растворы готовили непосредственно перед введением (согласно рекомендациям производителя препаратов) и вводили ежедневно в 9-10 часов. Через 6 и 12 дней моделирования, животных подвергали 18-часовой пищевой депривации со свободным доступом к воде. Забор биоптатов из тела желудка и ДПК проводили после выведения животного из эксперимента путем введения летальной дозы анестетика. Исследования проводили, придерживаясь нормативов Конвенции по биоэтике Совета Европы (в 1997 г.), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных исследований, общих этических принципов экспериментов на животных, принятых законом Украины (№ 1759 – VI от 15.12.2009 г.) “О защите животных от жестокого обращения”.

Для проведения морфологического исследования биопсийный материал очищали от жира и лимфатических узлов, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов с целью сохранения целостности клеток и тканей. После фиксации и обезвоживания в растворах этанола возрастающей концентрации материал заливался в парафин, согласно стандартной методике. Парафиновые срезы толщиной 3-5 мкм, при окраске гематоксилином-эозином подвергались тщательному микроскопическому исследованию [7]. Световая микроскопия проводилась с помощью светового микроскопа Leica DM2500 (“Leica”, Германия) с использованием объективов, x10, x20, x40, x100 и окуляра x10.

Для иммунофлуоресцентного исследования использовали срезы тканей толщиной 3 мкм на адгезивных (“Superfrost® Plus”) предметных стеклах. После депарафинации, демаскировки антигенов и промывки в TRIS-буфере (pH=7,4) на каждый из срезов наносили смесь первичных антител, одно из которых обязательно было против ядерного антигена Ki-67 (мышинные MIB-1 или кроличьи SP6), а второе – против мембранного или цитоплазматического антигена (табл. 1). Инкубацию первичных антител проводили в течение 14 часов во влажной камере при температуре 4°C. После трехкратного промывания в TRIS-буфере на каждый из срезов наносили смесь антимышиных и антикроличьих антител (“Invitrogen”) в разведении 1:50, меченных флуоресцентной меткой AlexaFluor 568 и AlexaFluor 488 соответственно, а также DAPI (“Sigma”), который дает синее свечение и используется для контрастирования ядер в разведении. Инкубацию проводили в течение 30 минут в темном месте во влажной камере при температуре 24°C. Затем срезы промывали в буфере, подсушивали, покрывали средой FluorMount (Electron Microscopy Sciences) и покровным стеклом [3].

Таблица 1

Антитела, использованные при иммунофлуоресцентном исследовании

Первичное антитело, разведение	Вторичное антитело, разведение
Vimentin (clone) 1:100	AlexaFluor 488 goat anti-rabbit IgG (Invitrogen), 1:50
eNOS (clone) 1:100	AlexaFluor 568 goat anti-mouse IgG (Invitrogen), 1:50
iNOS (clone) 1:100	DAPI (Sigma), 1:400

Флуоресцентный анализ проводили с помощью микроскопа Leica DM2500, оборудованного тремя флуоресцентными фильтрами и 10-мегапиксельной фотокамерой Leica D-Lux3. В каждом из образцов исследовали 10 полей зрения при увеличении x400. Каждое из полей зрения фотографировались 3 раза при использовании каждого флуоресцентного фильтра [2].

Результаты исследования и их обсуждение. У животных контрольной группы после 6 и 12 дней введения раствора NaCl было сохранено нормальное гистологическое строение желудка и ДПК (рис. 1А), при иммунофлюорисцентном окрашивании eNOs определялась в виде слабого диффузного свечения в области сосудов и желез (рис. 1Б). При окрашивании гематоксилином и эозином и сравнительном анализе DAPI+ ядер и стромальных структур область eNOs+ чаще всего соответствовала расположению слизистых клеток в железах. В ДПК область eNOs+ клеток была сконцентрирована строго в области сосудов, где отмечалось слабое диффузное свечение. Клетки, положительно окрашенные антителами к iNOs, определялись в незначительном количестве в желудке и ДПК, в области крупных сосудов и лимфатических фолликулов (рис. 1В). У крыс контрольной группы как eNOs, так и iNOs в ДПК были сконцентрированы в основном в клетках эпителия сосудистой сети. В желудке при сохраненном гистологическом строении заметное количество eNOs также определялось в слизистых клетках желудочных желез.

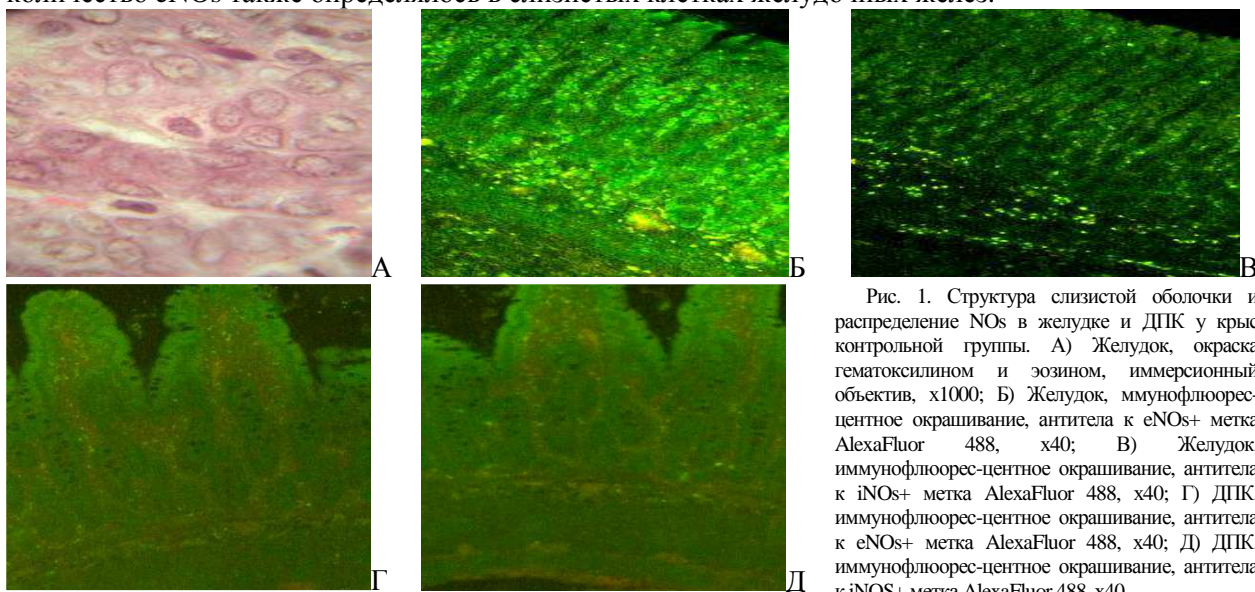


Рис. 1. Структура слизистой оболочки и распределение NOs в желудке и ДПК у крыс контрольной группы. А) Желудок, окраска гематоксилином и эозином, иммерсионный объектив, x1000; Б) Желудок, иммунофлюоресцентное окрашивание, антитела к eNOs+ метка AlexaFluor 488, x40; В) Желудок, иммунофлюоресцентное окрашивание, антитела к iNOs+ метка AlexaFluor 488, x40; Г) ДПК, иммунофлюоресцентное окрашивание, антитела к eNOs+ метка AlexaFluor 488, x40; Д) ДПК, иммунофлюоресцентное окрашивание, антитела к iNOs+ метка AlexaFluor 488, x40.

При визуальном анализе слизистой оболочки желудка после 6-суточного введения нитропруссид натрия не отмечалось видимых повреждений. При иммунофлюорисцентном окрашивании уже после 6 дней отмечалось снижение интенсивности свечения eNOs в слизистой оболочке желудка, по сравнению с контролем, и незначительное повышение интенсивности свечения в ДПК, в области сосудов (рис. 2).

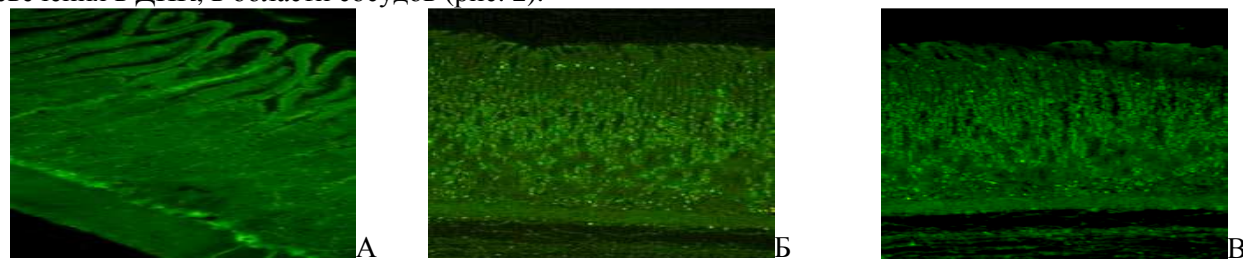


Рис. 2. Распределение NOs в желудке и ДПК у крыс, получавших нитропруссид натрия в течение 6 дней: А) ДПК, иммунофлюорисцентное окрашивание, антитела к iNOs+ метка AlexaFluor 488, x40; Б) Желудок, иммунофлюорисцентное окрашивание, антитела к eNOs+ метка AlexaFluor 488, x40; В) Желудок, иммунофлюорисцентное окрашивание, антитела к iNOs+ метка AlexaFluor 488, x40.

При продлении срока введения до 12 дней у единичных животных отмечали наличие одиночных эрозивных повреждений, которые по характеру диффузного расположения совпадали с теми, что определялись в условиях моделирования стрессорных повреждений [11]. В условиях 12-дневного избытка NO при гистологическом исследовании биоптатов желудка отмечалось расширение протоков желез, истощение и атрофия секретирующих клеток всех видов, апоптотические тельца и легкая лимфо-плазмоцитарная инфильтрация (рис. 3А). Через 12 дней после начала эксперимента клетки, положительно окрашенные на iNOS, как в желудке, так и в ДПК, встречаются значительно реже и их свечение отличается меньшей интенсивностью (рис 3). У крыс, принимающих нитропруссид натрия в течение 12 дней, в эксперименте отмечалось расширение протоков, истощение и атрофия секретирующих клеток желез желудка с выраженным снижением концентрации eNOs и практически полным отсутствием iNOs. Можно предположить,

что механизм управления распределением NOs основан, в том числе, и на принципе обратной связи, который реализуется при повышении поступления экзогенного NO.

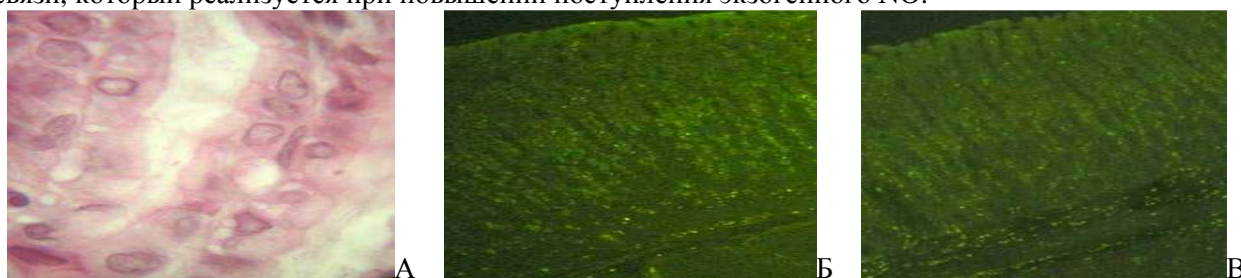


Рис. 3. Структура слизистой оболочки и распределение NOs в желудке у крыс, получавших нитропруссид натрия в течение 12 суток. А) Окраска гематоксилином и эозином, иммерсионный объектив, x1000; Б) Иммунофлюорисцентное окрашивание, антитела к eNOs+ метка AlexaFluor 488, x40; В) Иммунофлюорисцентное окрашивание, антитела к iNOs+ метка AlexaFluor 488, x40.

Избыток NO может вызывать повреждения за счет ингибирования окислительного фосфорилирования в митохондриях, разрывов ДНК, ингибирования ферментов цикла Кребса и образования чрезвычайно токсичных пероксинитритов. Также, избыток NO вызывает избыточную вазодилатацию и угнетение вазоконстрикции, что является звеном в патогенезе связанном с развитием гипотензии [6]. Полученные нами данные в предыдущих исследованиях секреторной активности слизистой оболочки желудка в условиях избытка NO [14] совпадают с данными [8], где автор в опытах на изолированных главных клетках желудка свиньи отмечал снижение стимулированной секреции пепсина 50-60% при введении L-NMMA. К тому же, один из механизмов тормозного влияния NO на кислую желудочную секрецию реализуется за счет стимулирующего влияния NO на циклооксигеназы, в результате чего увеличивается синтез простагландинов. Последние, как известно, тормозят стимулированную секрецию соляной кислоты [9].

Анализируя результаты гистологических и функциональных исследований можно сделать выводы как о развитии адаптационно-компенсаторных изменений слизистой оболочки желудка в условиях 6-ти суточного моделирования избытка NO, так и о развитии нарушений механизмов регуляции в условиях более длительного воздействия экзогенного введения NO.

При визуальном осмотре в слизистой желудка и ДПК после 6-ти дневного введения NG-нитро-L-аргинина не отмечалось эрозивно-язвенных повреждений, при иммунофлюорисцентном анализе определялось диффузное интенсивное свечение как iNOs, так и eNOs во всех клетках.

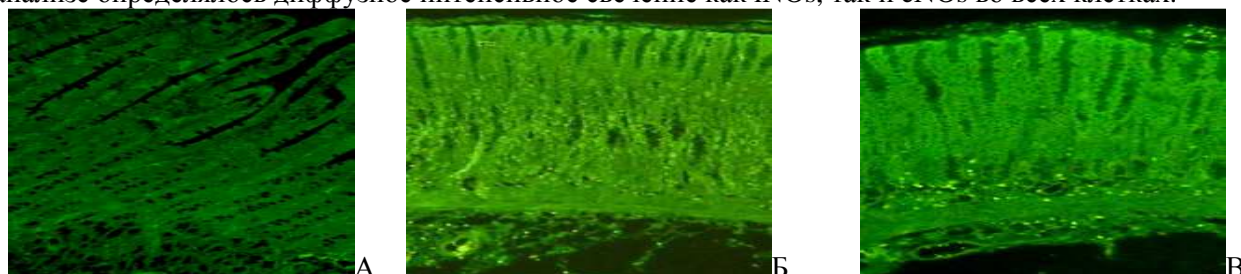


Рис. 4. Распределение NOs в желудке и ДПК крыс, получавших NG-нитро-L-аргинин в течение 6 дней: А) ДПК, иммунофлюорисцентное окрашивание, антитела к iNOs+ метка AlexaFluor 488, x40; Б) Желудок, иммунофлюорисцентное окрашивание, антитела к eNOs + метка AlexaFluor 488, x; В) Желудок, иммунофлюорисцентное окрашивание, антитела к iNOs+ метка AlexaFluor 488, x40.

В условиях увеличения длительности дефицита NO до 12 дней в ходе макроскопического анализа морфологического состояния слизистой оболочки желудка подопытных животных было выявлено наличие острых язв овальной и полигональной формы (в количестве 2-4), которые были расположены преимущественно в теле желудка [1]. При световой микроскопии биоптатов тела желудка отмечалось заметное разрушение клеток и нарушение структуры желез, тканевая эозинофилия (рис. 5А). Через 12 дней свечение маркера iNOs было уже менее выражено и диффузно распределено по всей области желез. В то же время, eNOs+ клетки с более выраженным свечением, по сравнению с контролем, но менее выраженным, по сравнению с 6-ти сутками эксперимента, по локализации оставались в пределах слизистых клеток, с добавлением интенсивного свечения в апикальной части – месте вероятного расположения G-клеток (Рис. 5Б). В ДПК наблюдалась картина, аналогичная контролю, с незначительным усилением свечения eNOs.

NG-нитро-L-аргинин является конкурентным ингибитором в ферментативном процессе синтеза NO из L-аргинина. Следовательно, вызывает эффекты обратные действию донаторов NO:

вазоконстрикцию, увеличение сократительной активности гладкой мускулатуры, спазмы сфинктерных аппаратов, гипертензию протоковых систем пищеварительных желез [16].

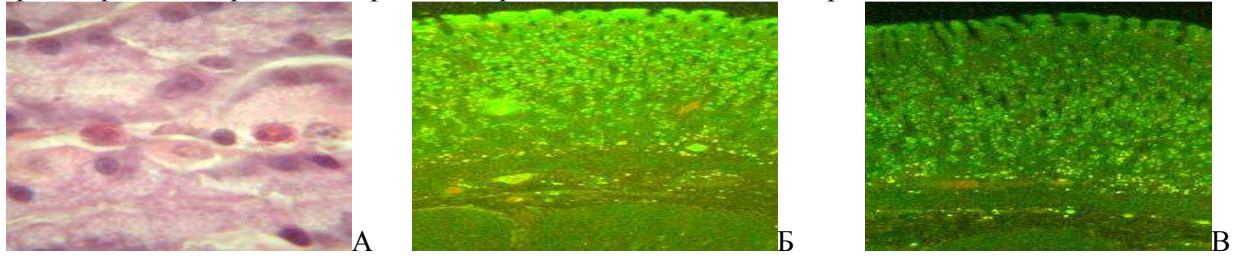


Рис. 5. Структура слизистой оболочки и распределение NOs в желудке крыс, получавших NG-нитро-L-аргинин. А) Окраска гематоксилином и эозином, иммерсионный объектив, $\times 1000$; Б) Иммунофлюорисцентное окрашивание, антитела к eNOs+ метка AlexaFluor 488, $\times 40$; В) Иммунофлюорисцентное окрашивание, антитела к iNOs+ метка AlexaFluor 488, $\times 40$.

Известно, что гистамин- и сАМР-индуцированная секреция желез желудка снижается в присутствии L-аргинина, субстрата для синтеза эндогенного NO, а также при воздействии донаторов NO – нитропрусида натрия или S-нитрозо-N-ацетилипенициллина. В то же время, прием NG-нитро-L-аргинина или NG-нитро-L-аргинин-метил-эстера вызывает ответ в виде стимуляции секреции [19]. В нашем исследовании мы отмечали выраженное повышение концентрации eNOs у крыс, которые получали NG-нитро-L-аргинин, наряду с нетипичной (отсутствующей в группе контроля) локализацией eNOs+ клеток в апикальной части желез, где располагаются G-клетки, секретирующие гастрин. Это позволяет сделать вывод, что отмечаемое другими исследователями воздействие NG-нитро-L-аргинина на желудочную секрецию реализуется через дисбаланс системы распределения NOs, в частности в гастрин-продуцирующих клетках.

Индукцибельная изоформа NOs считается ключевой составляющей защитного механизма NO. Она синтезируется клетками в ответ на цитокины и является важным фактором в реакции организма на воздействие паразитов, бактериальной инфекции, рост опухоли, развитие аутоиммунных заболеваний и т.д. Увеличение иммунореактивности iNOs в клетках, пораженных патологическим процессом, свидетельствует о специфичности этого маркера при воспалительных и деструктивных поражениях гастродуоденальной зоны [13].

Кроме того, последние исследования указывают на цитопротекторную роль iNOs при развитии оксидативного стресса. Таким образом, наблюдаемое нами повышение концентрации iNOs в желудке у крыс, получающих NG-нитро-L-аргинин, является комплексным ответом на воздействие сразу нескольких факторов. Во-первых, прямое цитотоксическое действие NG-нитро-L-аргинина в комбинации со стимуляцией секреции вызывает разрушение клеток желудочных желез, что ведет к привлечению в данную область клеток воспаления и гиперпродукции цитокинов. Помимо этого, частичное нарушение слизисто-бикарбонатного барьера приводит к развитию реакции раздражения и активному привлечению эозинофилов, большое количество которых мы наблюдаем в слизистом и подслизистом слое желудка у крыс этой группы. В этих условиях происходит активное производство токсичного супероксида с вовлечением восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата [17]. И, наконец, оксидативный стресс, который развивается при конкурентном ингибировании всех форм NOs NG-нитро-L-аргинином, также действует, как активатор компенсаторной экспрессии iNOs, и как следствие оксида азота.

Учитывая то, что NO, принимая непосредственное участие в регуляции периодической моторной деятельности желудка, связана как с прямым действием на гладко-мышечные клетки, так и с присутствием NOs в нейронах иннервирующих желудочно-кишечный тракт [21]. Важно подчеркнуть, что через NO, как вторичного посредника, обеспечиваются вазодилаторные эффекты блуждающего нерва и эффекты многих других вазоактивных веществ [22]. Характер нарушений в гистологической структуре слизистой оболочки желудка и в функционировании гладкомышечных клеток желудка и ДПК у подопытных животных в условиях дефицита NO имеет определенное сходство с поражениями, вызванными моделированием дуоденогастрального рефлюкса путем перорального введения желчи [10]. То есть, в данном случае установленное нарушение секреторной функции желудка, потеря согласованности между моторной активностью желудка и ДПК и, в общем, нарушение деятельности пилорического сфинктера, становится причиной заброса дуоденального содержимого в желудок. А эрозивно-язвенные повреждение, разрушение клеток и нарушение структуры желез слизистой оболочки желудка являются следствием как прямого воздействия дефицита NO так и косвенного – через нарушение согласованной периодической деятельности гастродуоденальной зоны.

Висновки

1. В нормі у крыс в желудку відзначається дифузне світіння eNOs в області слизових кліток залузу, розподілу в дванадцятиперстній кишці соотвєтствує розположенню судинної сітї. Клітки, позитивно окрашені антитєлами к iNOs, визначаються в незначителъному кочлїствє в желудку і в дванадцятиперстній кишці, в області крупних судонів і лімфатических фоллікулів.
2. После 6-ти днєвного введення нітрупрусїда натрія візуальное состоєніє слизовї оболонкі органів гєстродуоденальной області не відрізняєтє от контролє, хотє іммунуфлуоресцентний анализ оказав сниженіє інтенсивності світіння eNOs в слизовї оболонці желудка, по сравненію с контролем, і незначителъное повышеніє інтенсивності світіння в дванадцятиперстній кишці, в області судонів. Воздействіє донатора готовых молекул оксїда азота в теченіє 12-ти днєй в експерименте вызываєт істощеніє і атрофію секретірующлх кліток залузу желудка с выраженным компенсаторным сниженієм концентрєції eNOs в желудку по принципу обратной связл и незначителъным повышенієм в дванадцятиперстній кишці, что сопрооводжаєтє элімінацієй iNOs+ кліток в обох ісследуемых отделах желудочно-кишечного тракта.
3. После 6-и днєвного введення NG-нітруп-L-аргініна не відзначається возникновеніє відимых поврєждєній слизовї оболонкі, а при іммунуфлуоресцентном анализе визначаєтєся дифузное інтенсивное світіння как iNOs, так и eNOs во всех клітках. Воздействіє NG-нітруп-L-аргініна в теченіє 12-ти днєй практичєски не оказываєт впливє на розподілу NOs в в дванадцятиперстній кишці, однакו приводит к нарушенію структури залузу желудка и тканевой эозінофілії с повышенієм концентрєції iNOs, сигналізующем о развітії паталогического процесса. При этом eNOs визначаєтєся не только в слизовых, но и в G-клєтках залузу, где оказываєт впливє на механизмы желудочной секретіє.
4. Длительный дисбаланс в NO-эргической системе приводит к нарушенію адаптационно-компенсаторных механизмов, приводящих к изменєніям в NO-сінтазной активності, нарушенію функціонального состоєнія гєстродуоденальной зонл и, как следствіє, потере целостности морфологической структури слизовї оболонкі желудка. В условиях длительного дефіцита оксїда азота наблюдались дезадаптационные явлєнія, приводящие к болєе выраженным паталогическим процессам. В свою очередь детальная локалізєция механизмов развітія NO-зависимых паталогій требуєт дальнєйшего углубленного ізучєнія.

Перспективл дальнєйших ісследований. Полученные результєты свидєтельствуют о целесообразности дальнєйших ісследований направленных на выявленіє особенностей изменєній морфологической структури розподілу полногю спектра NOs в стенке желудка и дванадцятиперстній кишці при дисбалансе оксїда азота вызванных селективными інгібіторами сінтеза оксїда азота.

Спїсок літературы

1. Галінський О. О. Моторна діяльність шлунока та дванадцятипєлої кишкї за умов блокування NO-єргічної системи / О.О. Галінський, О.С. Трушенко, В.О. Галінський [та ін.] // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2010. – Вип. 18, Т. 2. – С 3–9.
2. Гуртовий В. А. Фєнотип проліферуючих клітин пухлини й мікрооточєння при різних клініко-морфологічних варіантах класичної лімфоми Ходжкіна / В. А. Гуртовий, І. С. Шпонька, І. В. Біленький [та ін.] // Патологія. – 2010. – Т. 7, № 3. – С. 56–61.
3. Гуртовий В. А. Стабільність пухлинної тканини при лімфомі Ходжкіна / В. А. Гуртовий, І. С. Шпонька, І. В. Біленький [та ін.] // Патологія. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 76–80.
4. Ковалєв І. В. Роль оксїда азота в регуляції електричєской і сократителъной активності гладких мьшц / І.В. Ковалєв, М.Б. Бєсєков, Л.В. Капилєвич [и др.] // Бюл. Сїб. Мед. – 2004. – Т.1, №1. – С. 7–26.
5. Крилова О. О. Роль NO в розвіткю хронічного панкреатиту / О.О. Крилова // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т. 15, №2 (58). – С. 218–221.
6. Малышев І. Ю. Стрєсс, адаптєция і оксїд азота / І.Ю. Малышев, Е.Б. Манухина // Біохимия. – 1998. – Т. 63, №7. – С. 992–1006.
7. Михайлова В. С. Современные методы окраскї / В.С. Михайлова // – BioVitrum, - 2009 –9 с.
8. Поленов С. А. Оксїє азота в регуляції функцій желудочно-кишечного тракта / С.А. Поленов // Рос. журн. гєстроєнтерол., гепатол. и колопроктол. – 1998. – №1. – С.53–59.
9. Полотнюк С. Вплив нітрупрусїду натрію на базальну та стимульовану шлунокову секретію кислоти у щурів / С. Полотнюк, Т. Берегова, Л. Штанова // Вісник Львівського університету. Біологія, екологія. – 2003. – Т. 1, № 2. – С. 217–221.
10. Рудєнко А. І. Моторна діяльність гєстродуоденальной зонл при дуоденогастральному рефлєксі у щурів / А. І. Рудєнко // Гєстроєнтерологія: міжвідомчий збірник. – 2007. –Т. 38. – С. 119–127.
11. Разуваєва О. В. Діяльність секреторних залоз шлунока та нітрупєргічні механизми її регуляції за умов моделювання адрєналінової виразкї/ О.В. Разуваєва, О.Б. Мурзін, А.І Рудєнко// Вісник Дніпропетровського університету. Біологія Екологія. – Вип.17, Т.1. – С. 193–198.
12. Северина І.С. Оксїд азоту. Роль розчинної гуанїлатциклази в механизмах його фізіологічних ефектів / І.С. Северина // – Вопр. мед. хїмії. – 2002. – №1. – С. 4–30.

13. Степанов Ю. М. Вивчення вмісту eNOS та iNOS у слизовій оболонці гастродуоденальної зони у хворих на НПЗП гастропатії до та після лікування / Ю.М. Степанов, Ю.С. Бреславець // Сучасна гастроентерологія. – 2010. – Т. 56, № 6. – С.32–38.
14. Севериновська О. В. Особливості періодичної активності шлунка за умов дисбалансу NO-ергічної системи. / О. В. Севериновська, О.О. Галінський, А. І. Руденко [та ін.] // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. – 2014. – Т.5, №1. – С.71–78.
15. Ткач С. М. Биологические эффекты оксидов азота в желудочно-кишечном тракте / С.М. Ткач, К.С. Пучков, Ю.Г. Кузнецов // Сучасна гастроентерологія. – 2013. – Т. 72, № 4. – С. 118–128.
16. Шевченко Б. Ф. Морфо-функціональний стан підшлункової залози при експериментальному хронічному панкреатиті / Б.Ф. Шевченко, О.М. Бабій, О.О. Галінський [та ін.] // Гастроентерологія: міжвідомчий збірник. – 2012. – Т. 46. – С. 288–294.
17. Alderton W. K. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition / W.K. Alderton, C.E. Cooper, R.G. Knowles // Biochem J. – 2001. – Vol. 357. – P. 593–615.
18. Bansinath M. Chronic administration of a nitric oxide synthase inhibitor, N omega-nitro-L-arginine, and drug-induced increase in cerebellar cyclic GMP in vivo / M. Bansinath, B. Arbabha, H. Turndorf [et al.] // Neurochemical research – 1993. – Vol. 18, No. 10. – P. 1063-1066.
19. Berg A. Nitric oxide-an endogenous inhibitor of gastric acid secretion in isolated human gastric glands // A. Berg, S. Redeen, A.-C. Ericson, S.E. Sjöstrand / BMC Gastroenterology. – 2004. – Vol. 4. – P. 16.
20. Bryan N. S. Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development / N.S. Bryan, K. Bian, F. Murad // Frontiers in Bioscience. – 2009. – Vol. 14. – P. 1–18.
21. Cavicchi M. Potentiation of cytokine induced iNOS expression in the human intestinal epithelial cell line, DLD-1, by cyclic AMP / M. Cavicchi, B.J. Whittle // Gut. – 1999. – Vol. 45, No. 3. – P. 367–374.
22. Elliott S. N. Nitric oxide: a regulator of mucosal defense and injury / S.N. Elliott, J.L. Wallace // J. Gastroenterol. – 1998. – Vol. 33, No6. – P. 792–803.
23. Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease / U. Förstermann // Pflügers Arch. – 2010. – Vol. 459, No. 6. – P. 923–939.
24. Kochar, N. I. (2011). Nitric oxide and the gastrointestinal tract / N.I. Kochar, A.V. Chandewal, R.L. Bakal [et al.] // International Journal of Pharmacology. – 2011. – Vol.7, No. 1. – P. 31–39.
25. Lukas K. A. Guanylylcyclases and signaling by cyclic GMP / K.A. Lukas, G.M. Pitari, S. Kazerounian [et al.] // Pharmacol. Rev. – 2000. – Vol. 52. – P. 375–413.
26. Litwack G. Nitric oxide. Vitamins and Hormones / G. Litwack // Academic Press. – 2014. – Vol. 96. – P. 1–18.
27. Moncada S. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology / S. Moncada, R.M. Palmer, E.A. Higgs // Pharmacol. Rev. – 1991. – Vol. 43. – P. 109–141.
28. Stamler J.S. Nitrosylation, the prototypic redox-based signaling mechanism. / J.S. Stamler, S. Lamas, F.C. Fang // Cell. – 2001. – Vol. 106. – P. 675–683.
29. Shah V. Nitric oxide in gastrointestinal health and disease / V. Shah, G. Lyford, G. Gores [et al.] // Gastroenterology. – 2004. – Vol. 126. – P. 903–913.

Реферати

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА І ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ У ЩУРІВ ПРИ ДИСБАЛАНСІ ОКСИДУ АЗОТУ Галінський О. О., Ошмянська Н. Ю., Макарчук В. А., Севериновська О. В., Руденко А. І.

В роботі досліджено зміни морфологічної структури і розподілу ендотеліальної та індукбельної NO-синтази (eNOS і iNOS) слизової оболонки шлунка і дванадцятипалої кишки (ДПК) щурів, викликані 6-и і 12-ти денним введенням нітропрусида натрію і N-нітро-L-аргініну. При тривалому надлишку NO відзначалася атрофія секретуючих клітин залоз шлунку із компенсаторним зниженням рівня eNOS і підвищенням в ДПК, що супроводжується елімінацією iNOS+ клітин в досліджуваних відділах. Дефіцит NO призводить до порушення структури залоз шлунку і тканинної еозинofilії з підвищенням рівня iNOS, eNOS визначається не тільки в слизових, але і в G-клітинах залоз. Дисбаланс в NO-ергічній системі призводить до порушення адаптаційно-компенсаторних механізмів, що є причиною змін в NO-синтазній активності, порушення функціонального стану гастродуоденальної зони, і призводить до втрати цілісності морфоструктури слизової оболонки шлунка.

Ключові слова: слизова оболонка шлунка, дванадцятипала кишка, оксид азоту.

Стаття надійшла 10.10.2014 р.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE MUCOSA OF THE STOMACH AND DUODENUM IN RATS WHEN THE IMBALANCE OF NITRIC OXIDE Galinsky A. A., Oshmyanska N. Y., Makarchuk V. A., Severenovskaya E. V., Rudenko A. I.

We have investigated the changes in the morphological structure and distribution of endothelial and inducible NO-synthase (eNOS and iNOS) in the mucous membrane of stomach and duodenal ulcers in rats, caused 6 and 12-day injection of sodium nitroprusside and N-nitro-L-arginine. Under long-term excess NO has been observed atrophy of the gastric glands secreting cells with the compensatory decrease in the level of eNOS and improvement it in the duodenum, which is accompanied by elimination of iNOS+ cells in the studied parts of the gastrointestinal tract. The long- NO deficiency leads to structural damage of the gastric glands and tissue eosinophilia with an increased levels of iNOS, eNOS has been located not only in mucosal, but also in the G-cells of the glands. The imbalance in the NO-ergic system leads to disruption of the adaptive-compensatory mechanisms and progressive changes in the NO-synthase activity, disruption of the functional state of the gastroduodenal zone and to the loss of integrity of the morphological structure.

Key words: gastric mucosa, duodenum, nitric oxide

Рецензент Костенко В.О.