

УДК 616.37–002.4–089–085.36

О.І. Нумейко
ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

ОБГРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ЕКСТРАКТУ З МІДІЇ ЧОРНОМОРСЬКОЇ (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM.) У КОМПЛЕКСНІЙ ІНТЕНСИВНІЙ ТЕРАПІЇ ПАНКРЕОНЕКРОЗУ

У роботі вивчався вплив екстракту з мідії чорноморської (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) на показники глікемії та морфологічну структуру підшлункової залози щурів лінії Вістар з відносною інсуліновою недостатністю, викликаною введенням стрептозоточину на тлі високожирової дієти. Механізми позитивних ефектів екстракту з мідії пов'язані з наявністю в його складі амінокислот і поліненасичених жирних кислот, які можуть бути субстратами для відновлення і регенерації клітинних структур підшлункової залози при панкреонекрозі, що ускладнився цукровим діабетом.

Ключові слова: панкреонекроз, цукровий діабет, екстракт з мідії чорноморської.

Робота є фрагментом наукової теми «Пошук біологічно активних речовин, що впливають на основні патогенетичні ланки цукрового діабету, серед сполук з гуанідиновим та тіазолідиновим фрагментами», № держреєстрації 0107U000424.

Панкреонекроз - одне з найважчих захворювань серед усіх патологій органів черевної порожнини. Як правило, панкреонекроз розвивається внаслідок панкреатиту. При цьому захворюванні порушуються механізми захисту підшлункової залози з послідуєчим їй самоперетравлюванням, внаслідок чого відбувається некроз окремих ділянок цього органу. Летальність при панкреонекрозі вкрай висока, зважаючи на розвиток тяжких ускладнень при даній патології. Панкреонекроз розвивається в три етапи. Перший етап - фаза токсемії. При токсемії в крові хворого з'являються бактеріальні токсини, хоча самих мікробів, що виділяють токсини, може в крові і не бути. Підшлункова залоза під час цієї фази посилено продукує ферменти. Другий етап - утворення абсцесу в самій залозі і оточуючих її органах. На третьому етапі панкреонекрозу починаються гнійні зміни в тканині залози і навколишньої забрюшинної клітковини. Прогноз хвороби залежить від того, наскільки серйозно вражена підшлункова залоза, і чи швидко розпочато лікування. Лікування панкреонекрозу передбачає хірургічні і консервативні методи. Тактика хірургічного втручання визначається в першу чергу глибиною анатомічних змін в підшлунковій залозі. Лапароскопію слід розглядати як основний метод хірургічного лікування. Застосування лапароскопії дозволяє уникнути необгрунтованих лапаротомій, забезпечити адекватне дренивання і ефективне лікування та обгрунтувати показання до лапаротомії. Проводиться встановлення дренажів і проведення перитонеального лаважу-діалізу. Це дозволяє видаляти токсичні і вазоактивні речовини. В деяких випадках проводиться резекція ділянок підшлункової залози. Це усуває можливість ерозії судин і виникнення кровотеч, а також попереджає утворення абсцесів. Недоліком цього методу є те, що у значній кількості хворих в післяопераційному періоді розвивається екзо- та ендокринна недостатність з формуванням вторинного цукрового діабету. Оперативне втручання не завжди усуває можливість розвитку гнійних ускладнень. У зв'язку з цим інколи виникає необхідність в повторних операціях, що збільшує післяопераційну летальність. Консервативне лікування передбачає сувору індивідуальність в залежності від патогенетичних факторів та стадії захворювання. На початковому етапі лікування полягає в дезінтоксикації, включаючи гемо-, лімфо- чи плазмасорбцію. Проводиться декомпресія шлунка шляхом установки назогастрального зонда. Використовуються цитостатичні препарати, які пригнічують синтез білка і, зокрема, внутрішньоклітинне утворення ферментів (5-фторурацил). Подібний механізм дії має панкреатична рибонуклеаза, яка, руйнуючи м-РНК, викликає оборотне порушення біосинтезу білка в підшлунковій залозі. Застосування соматостатину і його аналогів має гарний вплив як на процес самого захворювання, так і на його результат. Ці препарати знижують панкреатичну секрецію, усувають необхідність анальгезуючої терапії, знижують частоту ускладнень і летальність. Слід зазначити, що частота ускладнень при панкреонекрозі вкрай висока. Одним з поширених ускладнень, що виникає внаслідок масивної загибелі В-клітин у складі острівців Лангерганса підшлункової залози, є розвиток цукрового діабету при панкреонекрозі.

Метою роботи було дослідження препарату природного походження, який має властивості відновлювати пошкоджену клітинну структуру підшлункової залози при панкреонекрозі та сприяти репаративному відновленню як ацинарної, так і острівцевої її частини, і може бути використаний для комплексного лікування вторинного цукрового діабету на фоні панкреонекрозу у складі загальної інтенсивної терапії цього патологічного процесу.

Матеріал та методи дослідження. В якості такого препарату нами був обраний екстракт з мідії чорноморської, що володіє антиоксидантними властивостями і має унікальний склад. У його складі ідентифіковані 20 амінокислот, в тому числі, всі незамінні, есенціальні жирні кислоти, мікроелементи і вітаміни А, Е, С, U [5]. На сьогоднішній день налагоджено промислове виробництво препаратів на основі екстракту з мідії чорноморської, які широко використовуються для антиоксидантної терапії у хворих з різними патологічними станами. Але наукових розробок по використанню екстракту в лікуванні вторинного цукрового діабету на фоні панкреонекрозу не існує. Тому у даній роботі ми досліджували дію екстракту з мідії чорноморської на щурах при модельованому цукровому

діабеті з метою послідувочої екстраполяції отриманих ефектів на комплексне лікування хворих при панкреонекрозі з ускладненням у вигляді вторинного цукрового діабету. Нами були вивчені морфологічні характеристики підшлункової залози щурів при експериментальному цукровому діабеті. Використовувалась високожирова модель відносної інсулінової недостатності [6]. Тварин тривалий термін витримували на дієті, в якій 40% калорій склали насичені жири, в результаті чого розвивалась гіперліпідемія. Потім щурам внутрішньочеревно вводили субдіабетогенну дозу стрептозоцину. Після формування відносної інсулінової недостатності і встановлення базальної гіперглікемії тваринам (40 самців лінії Вістар, статевозрілі, масою 200-220 г) починали давати екстракт з мідії чорноморської. Одна група щурів отримувала екстракт з мідій щодня в дозі 0,4 г / кг маси протягом 14 днів. Контрольні щури з експериментальним цукровим діабетом не отримували екстракту. Препарат з мідій у вигляді водного розчину і воду (плацебо) вводили внутрішньошлунковим зондуванням. Вміст глюкози в сироватці крові визначали глюкозооксидазним методом з використанням ферментативного аналізатора «Ексан - Г» (Литва). Гістологічні дослідження підшлункової залози проводили за загальноприйнятою методикою з фарбуванням зрізів тканини гематоксилином і еозином [2]. Результати досліджень були статистично оброблені за допомогою стандартного пакета програм Excel (версія 7). Порівняння груп проводили з використанням класичного t-критерію Ст'юдента [4].

Результати досліджень та їх обговорення. В якості нового перспективного цукрознижуючого засобу для дослідження було обрано екстракт з мідії чорноморської. Більшість компонентів екстракту можуть служити субстратами для синтезу пошкоджених клітинних структур і ферментів при діабеті. Крім того, раніше були показані антиоксидантні властивості даного екстракту [1]. Нами був виміряний рівень глюкози в групах щурів з діабетом і у контрольних тварин. Як видно з даних таблиці, після 14 днів одержання досліджуваної речовини, рівень глюкози в сироватці крові щурів з цукровим діабетом (базальна глікемія) достовірно нижче в порівнянні з показниками щурів з цукровим діабетом, які отримували плацебо.

Таблиця

Вплив екстракту з мідій на концентрацію глюкози в крові щурів з цукровим діабетом, ($X \pm S_x$), n=5-7

Група	Базальна глікемія, ммоль/л
Норма	4,24 ± 0,27*
Діабет	13,33 ± 0,34**
Діабет+екстракт з мідій	8,22 ± 0,11***

Примітка: ** - Достовірно відносно норми, $p < 0,001$; * - достовірно відносно діабету, $p < 0,01$.

Структура нормальної підшлункової залози має вигляд, представлений на рис. 1. Паренхіма залози складається з ендокринної і екзокринної частин. Ендокринна частина представлена острівцями Лангерганса - скупченнями ендокринних клітин навколо капілярів. Екзокринну частину утворюють ацинуси, що складаються з 8-12 екзокринних секреторних клітин. Кровоносні судини проходять в міжчасточковій сполучній тканині [3].

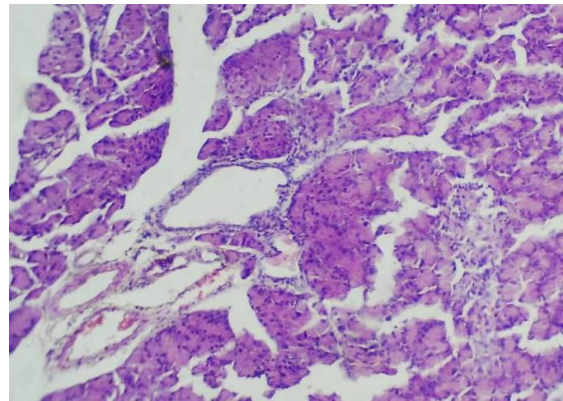
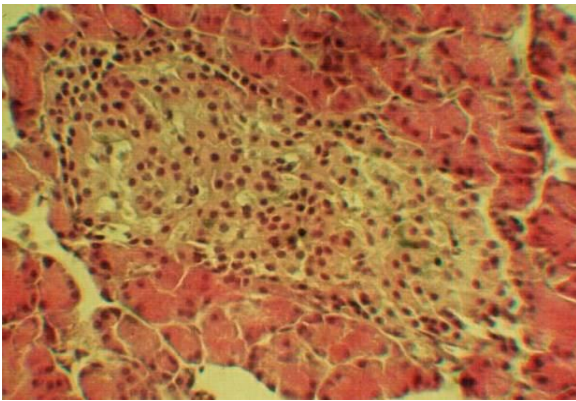


Рис. 1. Морфологічна структура нормальної підшлункової залози. Заб. гематоксилином і еозином. Зб. x300.

Рис. 2. Морфологія підшлункової залози щурів з відносною інсуліновою недостатністю, які отримували плацебо. Виражена дистрофія острівців Лангерганса, порожні протоки, дистрофія ацинарних клітин. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Зб. x200.

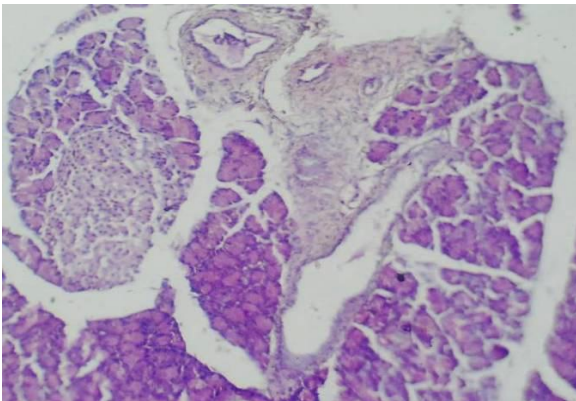


Рис. 3. Морфологія підшлункової залози щурів з відносною інсуліновою недостатністю, які отримували екстракт з мідії чорноморської. Острівці Лангерганса овальної та округлої форми, навколо проток утворення нових острівців. Заб. гематоксилін-еозин. Зб. x200.

Як представлено на рис.2, у групі щурів з експериментальним цукровим діабетом, які отримували плацебо, структура ацинусів не визначається; ацинуси мають неправильну форму. Клітини ацинусів з явищами дистрофії. Міжацинарні протоки розширені, міцями значно. Виявляється гіперемія капілярів. Протоки «порожні», не містять секрету. Острівців Лангерганса практично немає, вдається виявити 1-2 острівця в препараті. Як правило, вони неправильної форми, значно зменшені в розмірах, 50-80 мкм, клітини їх знаходяться в стані вираженої дистрофії. Одиночні острівці некротизовані, на їх місці виявляються гомогенні еозинофільні маси. В острівцевих клітинах присутнє слабке базофільне забарвлення, що побічно свідчить про низьку секреторну активність. В острівцях Лангерганса α -клітини переважають над β -клітинами. Дані рис. 3 свідчать, що в групі діабетичних щурів, які отримували екстракт з мідій, гістологічна структура підшлункової залози практично відновлена. Ацинуси мають нормальну будову, правильну форму, цитоплазма їх забарвлена нерівномірно, протоки заповнені секретом, що побічно вказує на високу зовнішньосекреторну активність. Інсулярна частина підшлункової залози представлена острівцями Лангерганса овальної та округлої форми до 100 мкм в діаметрі. Маленькі острівці, до 50 мкм, виявляються поряд з протоками, що говорить про можливість утворення β -клітин з протокового епітелію.

Рис. 2

1. Рівень глікемії у щурів з модельованим цукровим діабетом, які отримували екстракт з мідії чорноморської, достовірно нижчий в порівнянні з тваринами, що отримували плацебо.
2. Застосування екстракту з мідії чорноморської призводить до відновлення морфологічної структури підшлункової залози. Екстракт з мідії чорноморської має виражені регенеративні властивості, на що вказує наявність маленьких острівців Лангерганса, до 50 мкм, які виявляються поряд з протоками, і свідчать про можливість утворення β -клітин з протокового епітелію.
3. Враховуючи деструктивні зміни, що виникають в підшлунковій залозі при панкреонекрозі і часто призводять до появи вторинного цукрового діабету, екстракт з мідії чорноморської може бути використаний для комплексного лікування хворих на панкреонекроз з ускладненням у вигляді цукрового діабету у складі загальної інтенсивної терапії цього патологічного процесу.

Перспективи подальших досліджень: в подальшому планується продовжити дослідження позитивного впливу екстракту з мідії чорноморської в комплексній терапії соматичних захворювань та їх ускладнень, які супроводжуються розвитком метаболічного ацидозу.

Література

1. Возможные молекулярные механизмы действия препарата из мидий в организме крыс с аллоксановым диабетом / Овсянникова Т.Н., Забелина И.А., Дягелева Е.А. [и др.] // Укр. біохім. журн. – 2002. - Т. 74, №4а (додаток 1). – С. 66.
2. Волкова О. В. Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – М.: Медицина, 1982. – 304 с.
3. Гистология./ Под ред. Э.Г. Улумбекова, Ю.А. Челышева. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. – С. 390-393.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
5. Пат. 60504 А UA, Ф (13), (51)7A61K35/56. Біополімер з тканин молюсків, спосіб його виділення та біологічні властивості / О.Є. Бітютська, Т.М. Овсянникова, А.Г. Губанова, Н.І. Салатова, Б.І. Гудима, Л.П. Борисова (UA); Південний НДІ морського рибного господарства та океанографії (UA). - №2002108573; заяв. 29.10.02; опубл. 15.10.03, Бюл. № 10. – 18 с.
6. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat / M. J. Reed, K. Meszaros, L. J. Entes [et al.] // Metabolism. – 2000. – Vol. 49, № 11. – P. 1390-1394.
7. Minami K., Seino S. Pancreatic acinar-to-beta cell transdifferentiation in vitro // Front Biosci. – 2008. – N 1, Vol. 13. – P. 5824-5837.
8. O'Neill K. E., Eberhard D., Tosh D. Origin of beta-cells in regenerating pancreas // Bioessays. – 2008. – N 7, Vol. 30. – P. 617-620.
9. Sumi S., Gu Y., Hiura A., Inoue K., Stem cells and regenerative medicine for diabetes mellitus // Pancreas. – 2004. – N 3, Vol. 29. - P. 85-89.

Резюме

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАКТА ИЗ МИДИИ ЧЕРНОМОРСКОЙ (MYTILUS GALLOPROVINCIALIS LAM.) В КОМПЛЕКСНОЙ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ ПАНКРЕОНЕКРОЗА
Шумейко А.Г.

В работе изучалось влияние экстракта из мидии черноморской (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) на показатели гликемии и морфологическую структуру поджелудочной железы крыс линии Вистар с относи-

JUSTIFICATION FOR THE USE OF BLACK SEA MUSSELS' EXTRACT (MYTILUS GALLOPROVINCIALIS LAM.) IN THE COMPLEX INTENSIVE THERAPY OF PANCREONECROSIS
Shumeiko O.G

We studied the effect of an extract from the black sea mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) on glycemia indices and morphological structure of the pancreas of Wistar rats with relative insulin

тельной инсулиновой недостаточностью, вызванной введением стрептозотоцина на фоне высокожировой диеты. Применение экстракта из мидии в течение 14 дней после формирования относительной инсулиновой недостаточности и развития сахарного диабета снижало базальную гликемию, восстанавливало морфологическую структуру поджелудочной железы. Механизмы положительных эффектов экстракта из мидии связаны с наличием в его составе аминокислот и полиненасыщенных жирных кислот, которые могут быть субстратами для восстановления и регенерации клеточных структур поджелудочной железы при панкреонекрозе, осложнившимся сахарным диабетом.

Ключевые слова: панкреонекроз, сахарный диабет, экстракт из мидии черноморской.

Стаття надійшла 15.02.2011 р.

deficiency caused by streptozotocin induction against the background of highadiposing diet. Application of the extract of mussels within 14 days after the formation of a relative insulin deficiency and diabetes mellitus reduced basal hyperglycemia, restored the morphological structure of the pancreas. Mechanisms of the positive effects of an extract from mussels is binding with presence in its composition of amino acids and polyunsaturated fatty acids, which may be substrates for the repair and regeneration of cellular structures of the pancreas at pancreatic necrosis complicated with diabetes mellitus.

Key words: pancreatic necrosis, diabetes mellitus, extract from the black sea mussels.

УДК 616.441.019

А.А. Ходоровська, Т.М. Болжук, Ю.Ю. Малик, Н.И. Дегтярська
Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

СТРЕС - ІНДУКОВАНІ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ПОРУШЕННЯ ПАРЕНХІМИ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Вивчались порушення паренхіми щитоподібної залози, а саме морфологічні та функціональні зміни у тварин в умовах іммобілізаційного стресу. Визначали вміст вільних тиреоїдних гормонів, вміст кортизолу в плазмі крові та вивчали тиреотропну функцію гіпофіза.

Ключові слова: щитоподібна залоза, вільні тиреоїдні гормони, тиреотропний гормон, стрес, кортизол.

Відомо, що не тільки гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникова система, але і щитоподібна залоза може відповідати стереотипною реакцією на подразники, що викликають стан напруги, формувати основні патогенетичні механізми в екстремальних умовах [1]. Порушення функціональної активності щитоподібної залози спостерігається після фізичного навантаження, місцевого опромінення рентгенівськими променями, емоційної напруги і дії інших подразників [2]. Встановленим є той факт, що стрес викликає активацію кори наднирникових залоз внаслідок виділення адренкортиктропного гормону із передньої частки гіпофіза [3, 4, 5]. Організм людини постійно піддається дії різних стресогенних факторів, тому тривалий вплив з порівняно високою інтенсивністю цих факторів призводить до виснаження компенсаторних резервів організму, збільшення ймовірності зриву адаптації, що на популяційному рівні зумовлює зростання частоти різноманітних захворювань.

Метою роботи було вивчити особливості морфологічної та функціональної активності щитоподібної залози в умовах стресу та визначити вміст кортизолу надниркових залоз та тиреотропну функцію гіпофізу за допомогою морфологічних та гормональних методів досліджень.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведено на 14 білих статевозрілих щурах-самцях, з вихідною масою тіла 100-150 г. Тварини знаходилися на стандартному раціоні в приміщенні віварію при кімнатній температурі з вільним доступом до їжі та води. Дослідження проведені взимку (світловий режим 12 год. світло : 12 год. темрява). Тварини були розподілені на дві експериментальних групи: 1 група (n=7) – контрольна; 2 група (n=7) – тварини, які піддавалися стресу. Стрес моделювали шляхом 1-годинної іммобілізації тварин у пластикових клітках. Дослідних тварин скарифували шляхом декапітації під ефірним наркозом з дотриманням Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин (1977 р.) та положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах. Для вивчення функціонального стану залози визначали секреторну активність щитоподібної залози (вміст вільних тиреоїдних гормонів у крові) та її морфологічні особливості, а також тиреотропну функцію гіпофіза (вміст ТТГ у крові). Вміст ТТГ, вільних тироксину (вТ₄) та трийодтироніну (вТ₃), кортизолу в сироватці крові визначали за допомогою імуноферментного аналізу з використанням наборів реагентів ТТГ-ИФА, СвТ₄-ИФА, СвТ₃-ИФА, Кортизол-ИФА (ООО „Хема-Медика”, Росія). Для виконання морфологічних досліджень виділяли щитоподібну залозу (праву частину) та фіксували її в 10%-ному розчині формаліну впродовж 3 діб з наступною заливкою в парафін. Виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5±1 мкм та зафарбовували гематоксилін-еозином та вивчали морфологічні особливості щитоподібної залози.