

12. Olbe L. Effect of omeprazole on gastric acid secretion and plasma gastrin in man / L. Olbe, C. Cederberg, T. Lind [et al.] // Scand J. Gastroenterology, - 1989. - Vol.24 - P. 27-32.

Реферати

ВЛИЯНИЕ МЕЛАНИНА НА АКТИВНОСТЬ NO-ЭРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗАХ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГАСТРИНЕМИИ

Сухомлин А.А., Непорада К.С., Береговая Т.В.

Эксперимент выполнен на 17 белых крысах-самцах.

При длительном использовании ингибиторов протонной помпы развивается гипергастринемия. В условиях омепразол-индуцированной гипергастринемии возникают патологические изменения в тканях слюнных желез – дисбаланс регуляторных систем и снижение функциональных резервов тканей слюнных желез. Применение меланина нормализует активность NO-эргической системы в тканях слюнных желез.

Ключевые слова: омепразол, гипергастринемия, меланин, слюнные железы.

Стаття надійшла 10.01.2014 р.

INFLUENCE OF MELANIN ON ACTIVITY OF NO-ERGIC SYSTEM IN THE SALIVARY GLANDS' TISSUES AT THE HYPERGASTRINEMIA

Sukhomlyn A.A., Neporada K.S., Bereгова T.V.

The experiment was performed on 17 white male rats.

Prolonged use of proton pump inhibitors developed hypergastrinemia. In the conditions of omeprazole-induced hypergastrinemia pathological changes occur in the tissues of the salivary glands - an imbalance of regulatory systems and reduced functional reserve tissues of the salivary glands. Introduction of melanin normalizes activity of NO-ergic system in the tissues of the salivary glands.

Key words: omeprazole, hypergastrinemia, melanin, salivary glands.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 616.37-002-036.11

В. Ф. Черемісіна

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ІОННИЙ ТА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ГОМЕОСТАЗ В ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ЩУРІВ ПРИ ДЕРМАТИТАХ

В роботі вивчені порушення іонного та енергетичного гомеостазу сапонін-перфорованих лімфоцитів периферичної крові у щурів з дерматитами різної етіології. Показано, що стимуляція лімфоцитів антигенами запускає каскад енергетично-залежних процесів, які ведуть до перерозподілу макроергів у клітини; це пов'язано з достовірним зниженням оубаінчутливої Na^+, K^+ -АТФ-азної та Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФ-азної активності, зменшенням пулу АТФ в лімфоцитах. Доведено, що при дерматитах різної етіології, особливо алергічної природи, порушуються регуляторні механізми у лімфоцитах за рахунок перевантаження клітин Na^+ та Ca^{2+} , що призводить до енергодефіциту лімфоцитів і порушення їх функціональної активності.

Ключові слова: гомеостаз, лімфоцити, периферична кров, алергічний та контактний дерматит.

Алергічні захворювання – група мультифакторних хвороб, що представлена великою кількістю нозологічних форм, які відрізняються за походженням і об'єднані, переважно, за ознакою локалізації основного патологічного процесу у шкірі [7]. У структурі алергічних захворювань шкіри одна із головних ролей належить атопічному дерматиту. За даними експертів ВООЗ розповсюдженість атопічного дерматиту серед дітей складає до 20%, а серед дорослих до 10% [2].

Протягом останніх десятиріч у вітчизняній і закордонній науковій літературі акцент робиться на імунологічні порушення в патогенезі алергічних захворювань. Для оцінки функціонального стану імунної системи при алергічних захворюваннях запропоновано ряд тестів: визначення кількісного і якісного складу імуннокомпетентних клітин, їх мембранних маркерів, циркулюючих імунних комплексів, продуктів імуннокомпетентних клітин (цитокіни, імуноглобуліни, компоненти системи комплементу), реакція бласттрансформації лімфоцитів та інші [4, 10].

Одночасно, постійно йде пошук інтегральних біохімічних показників, які б відображали зміни функціонального стану організму. В цьому плані найбільшу увагу привертають лімфоцити периферичної крові, які є ключовими клітинами імунної системи та відіграють провідну роль в забезпеченні компенсаторно-приспосувальних реакцій організму. Лімфоцити представляють собою гетерогенну популяцію клітин і є центральною ланкою в специфічних імунологічних реакціях [4]. Дослідження ензиматичного спектру лімфоцитів широко використовуються при вивченні аутоімунних, імунодефіцитних, лімфопроліферативних та інших захворюваннях. Проте, нез'ясованими залишаються зміни іонного та енергетичного гомеостазу в лімфоцитах за умов розвитку алергічної патології, у тому числі в шкірі [8].

Метою роботи було вивчення іонного та енергетичного гомеостазу в лімфоцитах периферичної крові у щурів з дерматитами різної етіології.

Матеріал та методи дослідження. Експерименти проведено на 30 нелінійних щурах-самцях, масою 180,0-200,0 г, які були розподілені на три групи: перша група – інтактні тварини, друга група – щури з контактним дерматитом, третя група – щури з алергічним дерматитом.

© Черемісіна В.Ф., 2014

дерматиту (КД) [1] тваринам на депільовану ділянку шкіри спини розміром 3x3 см² щодня, протягом 10 днів, наносили по п'ять крапель живичного скипидару, який потім ретельно втирали у шкіру за допомогою скляної палички. На 10-й день експерименту у тварин стан шкірного покрыву оцінювали в балах, за ступенем розвитку дерматиту: 0 балів – видимих ушкоджень не спостерігалось; 1 бал – слабо виражена гіперемія з дрібнолускатим пошархненням; 2 бали – помірно виражена гіперемія, злущення, точкові крововиливи; 3 бали – виражена гіперемія, виразки шкіри; 4 бали – різка еритема з явищами геморагій, вираженою інфільтрацією, виразками.

Алергічний дерматит (АД) викликали у щурів, сенсibilізованих за методом Залкан П.М. [3] 2,4-дінитрохлорбензолом (ДНХБ). 3 краплі 5% розчину ДНХБ одноразово у вигляді аплікації наносили на місце сенсibilізації (поверхня спини) з додатковим нанесенням на 7 інших ділянок шкіри по 1 краплі 1% розчину. У розвитку сенсibilізації у щурів за клінічною та морфологічною картиною шкіри розрізняли 2 етапи. Перший етап – первинно-контактна реакція (через 24 години) у вигляді обмеженого набряку та гіперемії. Ця реакція має риси неспецифічного запалення з деякими ознаками початку розвитку сенсibilізації. Другий етап (на 8 добу) – спонтанна запальна реакція (реакція спалахування) з тотальним некрозом епідермісу та утворенням великих субепідермальних міхурів. Ця реакція розвинулася на імунній основі та обов'язковим компонентом при цьому була інфільтрація з наявністю базофілів. Про важкість алергічного дерматиту судили за загальним станом та поведінкою тварин, оцінювали за теми ж балами, що і контактний дерматит.

Багатоядерні лімфоцити периферичної крові щурів виділяли з гепаринізованої свіжоотриманої крові із хвостової вени у градієнті густини фіколтриумбразу ($\rho=1,08 \text{ г/см}^3$) [9]. Цільність і життєздатність лімфоцитів, яка в усіх дослідах становила не менше 95 %, оцінювали за забарвленням трипановим синім [14]. Для пермеабілізації мембран лімфоцитів периферичної крові та розкриття латентних АТФ-азних активностей до суспензії лімфоцитів додавали сапонін у концентрації 0,1-0,2 % [10].

Визначення загальної АТФазної ензиматичної активності лімфоцитів проводили при 37⁰С у середовищі інкубації (об'єм – 1 мл) наступного складу (мМ): 120 NaCl, 30 KCl, 5 MgCl₂, 1,5 АТФ, 1 ЕГТА, 1 NaN₃ (інгібітор мітохондріальної АТФ-ази), 20 Нерес-Трис-буфер (рН=7,4), 0,1 мкМ тапсигаргін (селективний інгібітор Ca²⁺,Mg²⁺-АТФази ЕПР) [11]. Наявність Ca²⁺-хелатора ЕГТА в середовищі інкубації забезпечувало зв'язування в ньому ендогенних іонів Ca²⁺. Визначення Ca²⁺,Mg²⁺-АТФ-азної ензиматичної активності лімфоцитів проводили при 37⁰С у середовищі інкубації (об'єм – 1 мл) наступного складу (мМ): 150 KCl, 0,05 CaCl₂, 5 MgCl₂, 5 АТФ, 1 NaN₃, 1 оубаїн (інгібітор Na⁺, K⁺-АТФ-ази), 20 Нерес-Трис-буфер (рН=7,4).

АТФ-гідролазну реакцію ініціювали внесенням до інкубаційного середовища аліквоти лімфоцитарної суміші; кількість білка у пробі не перевищувала 50-100мкг/мл. Вміст білка у лімфоцитарній суміші визначали за методом Лоурі [13]. Тривалість інкубації – 5 хв. Реакцію зупиняли додаванням 1 мл охолодженого стоп-розчину наступного складу: 1,5 М натрій ацетат, 3,7 % формальдегід, 14 % етанол, 5 % ТХО.

У дослідах контролем на позаензиматичний гідроліз АТФ було стандартне середовище інкубації, яке не містило досліджуваної проби. Величину оубаїнчутливої Na⁺,K⁺-АТФазної активності обчислювали за різницею між величиною загальної АТФ-азної активності і базальної Mg²⁺ активності у присутності оубаїну (1 мМ). Питому активність Ca²⁺,Mg²⁺-АТФ-аз лімфоцитів оцінювали як різницю між активністю АТФ-азних систем у Ca²⁺-вмісному та безкальцієвому середовищах. Для розділення сумарної Ca²⁺,Mg²⁺-АТФ-азної активності на складові: тапсигаргіннечутливу (Ca²⁺,Mg²⁺-АТФ-аза плазматичної мембрани - РМСА) та тапсигаргінчутливу (Ca²⁺,Mg²⁺-АТФ-аза мембран ендоплазматичного ретикулуму – SERCA) до стандартного Ca²⁺- та Mg²⁺-вмісного середовища інкубації додавали селективний інгібітор Ca²⁺,Mg²⁺-АТФ-ази ЕПР – тапсигаргін (0,1 мМ).

Усі дослідження проводили у відповідності з національними «Загальноетичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2011), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), та схвалені 1-им Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Усі маніпуляції, які викликали біль, проводили під барбаміловим наркозом [5].

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою пакета програм Statistica for Windows 6.0 з використанням t -критерію Ст'юдента та кореляційного аналізу. Зміни вважали дійсними при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Іонний гомеостаз є важливим показником функціональної активності лімфоцитів периферичної крові і визначається підтриманням сталої внутрішньоклітинної концентрації іонів K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- та H^+ . Прецензійний контроль внутрішньоклітинного рН, величина якого впливає на здатність клітин нормально функціонувати, та іонного гомеостазу забезпечується суперпозицією всіх транспортувальних систем лімфоцитів. Серед них провідна роль у виведенні іонів Na^+ та Ca^{2+} з цитоплазми лімфоцитів належить Na^+, K^+ -АТФ-азі та Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФ-азі. Na^+, K^+ -АТФ-аза – маркерний ензим плазматичної мембрани, є Ca^{2+} -незалежною, Na^+, K^+ -активною, Mg^{2+} -АТФ-залежною транспортувальною системою, яка здійснює активне трансмембранне перенесення іонів K^+ та Na^+ і селективно інгібується оубабаном. Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФ-аза здійснює спряжений гідроліз АТФ з транслокацією іонів Ca^{2+} крізь мембрану з клітини назовні або в цистерни ЕПР [6,8,15].

У щурів на КД і АД оубабінчутлива Na^+, K^+ -АТФаза активність лімфоцитів периферичної крові достовірно відрізнялась від її величини у інтактних тварин на $56,3 \pm 3,9$ % і $60,1 \pm 4,0$ % відповідно ($p < 0,05$) (рис. 1). Активність Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФ-азі плазматичної мембрани лімфоцитів периферичної крові щурів на КД і АД достовірно знижувалась на $56,3 \pm 2,8$ % і $66,9 \pm 4,2$ % ($p < 0,05$) відповідно у порівнянні з її величиною з групою контролю (рис. 2).

Подібну закономірність встановлено і для тапсигаргінчутливої компоненти Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФ-азі. Встановлено також достовірне зниження активності Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФ-азі мембран ендоплазматичного ретикулулу лімфоцитів периферичної крові щурів з КД і АД. Її активність достовірно відрізнялась у тварин на КД на $65,6 \pm 4,5$ %, а у щурів з АД – на $86,3 \pm 7,5$ % ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактною групою тварин.

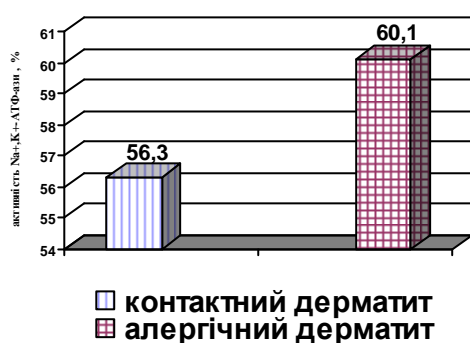


Рис. 1. Зміни Na^+, K^+ -АТФ-азної активності лімфоцитів периферичної крові щурів з КД та АД у порівнянні з інтактними тваринами, %.

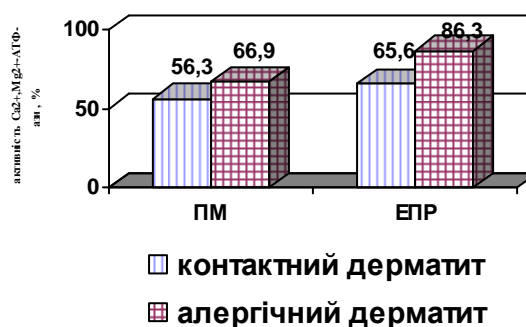


Рис. 2. Зміни Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФ-азної активності плазматичної мембрани (ПМ) і мембрани ендоплазматичного ретикулулу (ЕПР) лімфоцитів периферичної крові щурів, %.

Зниження ензиматичної активності Na^+, K^+ -АТФ-азі та Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФ-азі ПМ і ЕПР лімфоцитів периферичної крові мав більш вражений характер у щурів з АД ніж у щурів з КД.

Водночас, у хворих щурів обох досліджуваних груп зниження ензиматичної активності РМСА має більш виражений характер, ніж у випадку SERCA. Пригнічення активності Na^+, K^+ -АТФ-азі та Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФ-азі свідчить про зростання концентрації іонів Na^+ та Ca^{2+} у цитозолі лімфоцитів, зокрема, інгібування ензиматичної активності Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФ-азі ПМ та зростання Ca^{2+} у лімфоцитах крові щурів з модельованим АД [15].

Відомо, що стан внутрішньоклітинного іонного гомеостазу тісно пов'язаний з енергетичним обміном практично всіх біохімічних, біофізичних та фізіологічних процесів. Нами встановлено тісний взаємозв'язок між функціональною активністю лімфоцитів та їх енергетичним обміном. Доведено, що при розпізнаванні ефектором клітини-мішені відбувається локальний викид АТФ в міжклітинний простір, утворений в зоні контакту клітин. Зниження внутрішньоклітинної концентрації макроергів в лімфоцитах компенсується внаслідок активації метаболічних процесів.

Проте, при вичерпанні субстратного пулу відбувається інгібування енергетичних процесів в лімфоцитах, що веде до розвитку імунопатологічних процесів.

Результати, що були отримані нами, підтверджуються і іншими дослідниками [8,12] та дають можливість припустити, що при розвитку імунної відповіді ймовірність зриву енергетичного

гомеостазу імуннокомпетентних клітин зростає, що веде до порушень функціональної активності лімфоцитів при дерматитах різної етіології, особливо алергічного генезу.

Висновки

1. Стимуляція лімфоцитів антигенами запускає каскад енергетично-залежних процесів, які ведуть до перерозподілу макроергів у клітини.
2. Пригнічення активності Na^+, K^+ -АТФ-ази та $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази свідчить про зростання концентрації іонів Na^+ та Ca^{2+} у цитозолі лімфоцитів, що може привести до порушення функціональної активності лімфоцитів.
3. Зміни ензиматичних систем найбільш наявні при алергічному дерматиті.

Список літератури

1. Дроговоз С.М. Вивчення протизапальної активності мазі з амікацином на моделі скипидарного дерматиту у щурів / С.М. Дроговоз, О.В. Доровський, Я.О. Бутко [та ін.] // Ліки. – 2006. – № 3-4. – С. 43-46.
2. Диковицкая И.Г. Контактный дерматит: клиника и терапия / И.Г. Диковицкая, И.М. Корсунская // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. – 2012. - № 4. – С. 49-51.
3. Залкан П.М. Влияние синтетических моющих средств на реактивность кожи морских свинок / П.М. Залкан, Е.А. Иевлева // Актуальные вопросы профессиональной дерматологии. – М., - 1965. – С. 106-112.
4. Ниязов Д.Д. Локальный и системный иммунный ответ у больных тяжелыми атопическими дерматитами / Д.Д. Ниязов, Т.М. Филимонова, О.Г. Слисютина [и др.] // Российский аллергологический журнал. – 2011. - № 5. – С. 24-29.
5. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – М., Медицина, - 2000. – 352с.
6. Савченко А.А. Содержание АТФ и активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах при иммунодефицит-ассоциированных заболеваниях у пришлых жителей эвенки / А.А. Савченко, С.В. Смирнова, А.Г. Борисов // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – Т. 30, № 3. – С. 33-38.
7. Тамразова О.Б. Классика и инновации в наружной терапии хронических дерматозов / О.Б. Тамразова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2012. – № 1. – С. 62-64.
8. Augustine N.H. Comparison of ATP production in whole blood and lymphocyte proliferation in response to phytohemagglutinin / N.H. Augustine, B.M. Pasi, H.R. Hill // J.Clin.Lab.Anal. – 2007. – Vol. 21, N 5. – P. 265-270.
9. Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood / A. Boyum // Scand.J.Clin.Lab.Invest. – 1968. – Vol. 21 (Supp. 97). – P. 77-79.
10. Cocco R. Patch test in the diagnosis of food allergy / R. Cocco, D. Sole // Allergol. Immunopathol. – 2009. – Vol. 37, N 4. – P. 205-207.
11. Flynn E.R. Functionally Separate intracellular Ca^{2+} Stores in Smooth Muscle / E.R. Flynn, K.N. Bradley, T.C. Muir [et al.] // J.Biol.Chemestri. – 2001. – Vol.276, N 39. – P. 36411-36418.
12. Kowalski R.J. Immunodiagnosics: evaluation of functional T-cell immunocompetence in whole blood independent of circulating cell numbers / R. Kowalski, A. Zeevi, R. Mannon [et al.] // J. Immunotoxicol. – 2007. – Vol. 4, N 3. – P. 225-232.
13. Lowry O.H. Protein measurement with yhe Folin phenolreagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L.Farr [et al.] // J.Biol.Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265-275.
14. Muller L.R. Nitroblue tetrazolium reduction in monocytes and monocyte derivated macrophages / L.R. Muller, A. Rollag, S.S. Froland // Immun. Today. – 1989. – Vol. 97. – P. 490-496.
15. Selvam R. Low frequency and low intensity pulsed electromagnetic field exerts its anti-inflammatory effect through restoration of plasma membrane calcium ATPase activity / R. Selvam, K. Ganesan, R. Narayana Raju [et al.] // Life Sci. – 2007. – Vol. 80, N 26. – P. 2403-2410.

Реферати

ИОННЫЙ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ГОМЕОСТАЗ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У КРЫС ПРИ ДЕРМАТИТАХ

Черемисина В.Ф.

В работе изучены нарушения ионного и энергетического гомеостаза сапонин-перфорированных лимфоцитов периферической крови у крыс с дерматитами различной этиологии. Показано, что стимуляция лимфоцитов антигенами запускает каскад энергетически зависимых процессов, которые ведут к перераспределению макроэргов в клетке; это связано с достоверным снижением оубаинчувствительной Na^+, K^+ -АТФ-азы и $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФ-азной активности, уменьшением пула АТФ в лимфоцитах. Доказано, что при дерматитах различной этиологии, особенно алергической природы, нарушаются регуляторные механизмы в лимфоцитах за счет перегрузки клеток Na^+ и Ca^{2+} , что приводит к энергодефициту лимфоцитов и нарушению их функциональной активности.

Ключевые слова: гомеостаз, лимфоциты, периферическая кровь, алергический и контактный дерматит.

Статья надійшла 08.01.2014 р.

ION AND ENERGY HOMEOSTASIS IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN RATS AT DERMATITISES

Cheremisina V.F.

We studied disorders of energy homeostasis and ion saponin-perforated peripheral blood lymphocytes in rats with dermatitis of various etiologies. Shown that stimulation of lymphocyte antigen triggers a cascade of energy-dependent processes, which lead to a redistribution of macroergs in the cell, and this is associated with a significant decrease oубаин sensitive Na^+, K^+ -ATP-ase and $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -ATP-ase activity, a decrease in the pool of ATP in lymphocytes. Proved that with dermatitis of various etiologies, especially allergic nature, violated regulatory mechanisms in lymphocytes by overloading cells Na^+ and Ca^{2+} , which leads to energy deficit lymphocytes and a violation of their functional activity.

Key words: homeostasis, lymphocytes, peripheral blood, and allergic contact dermatitis.

Рецензент Запорожець Т.М.