

го применения композиции иммуномодулятора мурамилпептидного ряда лиастена и антимикробной мази на гидрофильной основе левомеколь у больных с гнойными ранами. Положительное влияние предложенной комбинации на течение раневого процесса подтвердили эффективность и целесообразность ее применения в клинической практике.

Ключевые слова: гнойная рана, раневой процесс, лиастен, комбинированная мазь.

Chornopyschuk R.M., Zheliba M.D., Burcovskyi M.I., Urvan O.G.

MORPHOLOGICAL GROUNDING FOR ADVISABILITY OF LOCALLY APPLIED COMBINATION OF LIASTENUM AND LEVOMEKOL DURING COMPREHENSIVE TREATMENT OF PURULENT WOUNDS

Summary. The article describes the results of morphological studies of tissue taken from the area of the wound, against local use of the composition of immunomodulator liastenum and antimicrobial ointments Levomekol in patients with purulent wounds. The positive impact of the proposed combination on the course of wound process confirmed the effectiveness and appropriateness of its use in clinical practice.

Key words: purulent wound, wound process, Liastenum, combined ointment.

Рецензент - д.мед.н., проф. Хіміч С.Д.

Стаття надійшла до друку 4.05.2015 р.

Желіба Микола Дмитрович - д.мед.н., професор, завідувач кафедри загальної хірургії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова; m.d.zheliba@rambler.ru

Бурковський Микола Іванович - к.мед.н., доцент кафедри загальної хірургії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова; burcov@gmail.com

Чорнопищук Роман Миколайович - магістрант кафедри загальної хірургії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова; +38 097 212-89-63; ro_man@mail.ru

Урван Олена Георгіївна - лікар відділення біопсійних досліджень Вінницького обласного патолого-анатомічного бюро; +38 097 473-35-06

© Бабій О.М.

УДК: 591.4+599.323.001.6/616.37

Бабій О.М.

Державна Установа "Інститут гастроентерології НАМН України" (просп. Правди, 96, м. Дніпропетровськ, Україна, 49000)

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В УМОВАХ ДЕФІЦИТУ ОКСИДУ АЗОТУ У ЩУРІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. При експериментальному введенні неспецифічного інгібітору NOs NG-нітро-L-аргініну найбільш значні дисциркуляторні та диссекреторні зміни спостерігалися на 12 добу, після чого реакція помітно сповільнювалася в зв'язку з компенсаторною відповіддю організму. На 30 добу в перидуктулярній зоні формувалися тяжі фіброзної тканини, про що також свідчило збільшення в крові маркера синтезу колагену - Опб/св ($p < 0,05$). Функціональна недостатність ПЗ виявлялася зниженням в крові активності панкреатичних ензимів ($p < 0,05$), а при морфологічному дослідженні - гіпосекрецією ацинарних клітин. Максимальне зниження концентрації нітритів/нітратів спостерігалося після першої доби ($p < 0,05$) з поступовим максимальним підвищенням на 12 добу ($p < 0,05$).

Ключові слова: оксид азоту, NG-нітро-L-аргінін, підшлункова залоза, експериментальний панкреатит, фіброз.

Вступ

Постійна увага до проблеми хронічного панкреатиту (ХП) зумовлена тим, що це хронічне поліетіологічне запально-дистрофічне захворювання підшлункової залози (ПЗ), яке характеризується прогресуючим перебігом, наростаючими вогнищевими, сегментарними чи дифузними дегенеративними і деструктивними змінами її паренхіми та розвитком фіброзу [Губергриц, Христич, 2000; Лазебник и др., 2005].

Останні дослідження фіброгенезу ПЗ при ХП показують, що головну роль у запуску процесів фіброзу відіграють "стелатні" або "зірчасті" клітини, які активуються під дією оксидативного стресу [Arte et al., 1998].

Оксид азоту (NO) відіграє важливу роль у регулюванні процесів гомеостазу, завдяки його широкого спектру біорегуляторної дії. NO функціонує в центральній і вегетативній нервовій системах, регулює діяльність органів дихальної та сечостатевої системи і шлунково-

кишкового тракту. NO є аутокринним і паракринним медіаторами, оскільки, будучи синтезованим в різноманітних клітинах, він здатний впливати на метаболічні процеси в них і в сусідніх клітинах [Винокурова и др., 2011; Степанов и др., 2012].

Посилена інактивація або недостатній синтез NO індукують оксидативний стрес, викликаний дисбалансом між активністю ендогенних проокисних ензимів та антиоксидантами [Pflugers, 2010].

У фізіологічних умовах NO синтезується з L-аргініну за допомогою ферментів NO-синтаз (NO-synthase - NOs), другим продуктом реакції є L-цитрулін. NOs - єдиний відомий на даний момент ензим, який використовує в цьому процесі одночасно 5 кофакторів / простетичних груп (флавінаденіндинуклеотид, флавінмононуклеотид, гем, тетрагідробіоптерин та кальцій / кальмодулін), будучи, таким чином, одним з найбільш регульованих у

природі ферментів [Bansinath et al., 1993].

Раніше була створена модель панкреатиту, індукованого блокуванням на 6 та 12 доби нітроергічної ланки регуляції на основі застосування неспецифічного інгібітора NOs NG-нітро-L-аргініну, який приводив до порушення кровообігу ПЗ та супроводжувався активацією зовнішньосекреторної функції ПЗ [Крилова, 2011]. Однак, в літературі не відмічається даних про вплив NG-нітро-L-аргініну на фіброгенез ПЗ при ХП.

Мета роботи - визначити морфо-функціональний стан ПЗ в умовах оксидативного стресу у крис, викликаного дефіцитом NO при тривалому введенні блокатора синтезу NOs - NG-нітро-L-аргініну.

Матеріали та методи

Автор висловлює особисту подяку завідувачу лабораторії патофізіології, к.б.н. А.І. Руденко та науковому співробітнику А.А. Галінському за допомогу в проведенні експериментальних досліджень, завідувачу лабораторії патоморфології, д.м.н. Ю.А. Гайдару та науковому співробітнику Н.Ю. Ошмянській за допомогу в здійсненні морфологічних досліджень панкреатобіоптатів, старшому науковому співробітнику лабораторії біохімії, к.б.н. В.А. Макачук в проведенні біохімічних досліджень сироватки крові та д.м.н., професору Б.Ф. Шевченко за консультацію в написанні статті.

Дослідження проведено на 48 лабораторних білих щурах-самцях лінії Wistar вагою 180-230 г. Експеримент проводився шляхом внутрішньочеревинного введення неспецифічного інгібітора NOs NG-нітро-L-аргініну виробництва "Sigma-Aldrich" (USA) в дозі 40 мг/кг протягом 1 доби (n=6); 2 дб (n=6); 6 дб (n=7); 12 дб (n=8); 30 дб (n=6). Розчин готували безпосередньо перед експериментом (згідно з рекомендаціями виробника препаратів) і вводили тваринам внутрішньочеревинно о 9-10 годині ранку. Контрольну групу (n=15) складали інтактні щури, яким внутрішньочеревинно вводили 0,9 % розчин NaCl протягом 1, 2, 6, 12 та 30 дб. Щурів виводили з експерименту на 1, 2, 6, 12 та 30 доби. Дослідження проводили, дотримуючись нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи (1997 р.), Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових досліджень, загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених законом України (№ 1759 - VI від 15.12.2009 р.) "Про захист тварин від жорстокого поводження".

Після виведення щурів з експерименту для виконання гістологічних досліджень ПЗ відчищали від жиру та лімфатичних вузлів. Після цього 10-15 % органу фіксували в 10,0 % розчині нейтрального забуференого формаліну для подальшого гістологічного дослідження. Біоптати зневоднювали в спиртах висхідної концентрації та заливали в парафін. Гістологічні зрізи товщиною 3-5 мкм фарбували гематоксиліном і еозином та за Маллорі в модифікації Слінченко.

При збільшенні 100x в трьох полях зору оцінювали-

ся три групи показників: 1) явища дистрофії/атрофії; 2) явища фіброзу (перидуктулярний та міжчасточковий фіброз); 3) накопичення секрету в ацинарних клітинах.

Гістологічні результати кожної групи виражалися у відсотковому співвідношенні, де за 100 % приймалося все поле зору.

Біохімічні процеси фіброзу оцінювали за вмістом в сироватці крові оксипроліну вільного (ОПв), оксипроліну білковозв'язаного (ОПб/з) [Осадчук, Капустин, 1987] та гексозамінів (ГА) [Камышников, 2002]. Продукцію NO визначали за сумарним вмістом нітритів/нітратів у сироватці крові за допомогою реактиву Гріса [Метельська, Гуманова, 2005]. Для оцінки зовнішньосекреторної функції ПЗ в сироватці крові визначали активність панкреатичних ензимів: α -амілази набором фірми "Філісідіагностика" та трипсину - за Ерлангером у модифікації Шатернікова [Камышников, 2002].

Вихідні дані, отримані при виконанні роботи, з метою оптимізації математичної обробки вводили у базу даних, побудовану за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel 2010 на персональному комп'ютері системи Pentium-400 під керуванням оболонки Windows XP.

Результати. Обговорення

Через добу після введення NG-нітро-L-аргініну в ПЗ усіх щурів при морфологічному дослідженні відзначалися ацинарні клітини з пригніченням накопичення секрету, через 2 доби - їх кількість збільшилась, відмічались розсіяні дистрофічні зміни та у 50,0 % тварин - вогнищева жирова дистрофія.

На 6 добу кількість ацинарних клітин з пригніченням накопичення секрету знов зменшилася до рівня в першій добі, відмічався стаз формених елементів крові в судинах на фоні їх спазма і вогнищеве накопичення лейкоцитів в паренхімі ПЗ.

На 12 добу розвивалась помітна дисциркуляторна гіпоксія з осередками дистрофії та атрофії ацинарної тканини без ознак запалення. Ацинарні клітини з пригніченням накопичення секрету домінували по всій площині біоптату. У ряді випадків в зоні атрофії розвивався нижній перидуктулярний фіброз.

На 30 добу у всіх тварин спостерігалися явища вогнищевого розсіяного апоптозу, а кількість ацинарних клітин з пригніченням накопичення секрету значно зменшилась. Також, спостерігалось розширення судин і внутрішньочасточкових проток та стаз клітин крові, хоча ці ознаки були вже не так сильно виражені, як на 12 добу, що може вказувати на адаптаційне підвищення рівня антиоксидантів, які врівноважують активність ендогенних проокисних ферментів

У всіх тварин на 30 добу розвивався фіброз різного ступеню виразності, який може свідчити про те, що фізіологічний антиоксидантний резерв повільно виснажується та вже не може запобігати індукції зірчастих клітин.

Гістоструктурні зміни ПЗ супроводжувалися змінами біохімічних показників у крові, які характеризують

Таблиця 1. Біохімічні показники в сироватці крові щурів в умовах дефіциту оксиду азоту.

Показники, одиниці виміру	Контрольна група (n=15)	1 доба / 40 мг (n=6)	2 доба / 40 мг (n=6)
Нітриди/нітрати, мкмоль/л	32,61±4,55	14,85±2,64*	15,40±3,33
α-Амілаза, мг/с-л	96,02±20,30	36,72±1,54*	16,03±1,42**
Трипсин, мкмоль/мл·хв.	4,19±0,92	0,77±0,08**	13,00±1,05**
ОПб/з, мкмоль/л	178,67±26,39	179,34±5,65	186,66±10,42
ОПв, мкмоль/л	9,96±0,71	10,08±1,25	10,53±1,32
ГА, г/л	4,27±0,18	4,36±0,20	4,72±0,18

Таблиця 2. Біохімічні показники в сироватці крові щурів в умовах дефіциту оксиду азоту.

Показники, одиниці виміру	6 доба / 40 мг (n=7)	12 доба / 40 мг (n=8)	30 доба / 40 мг (n=6)
Нітриди/нітрати, мкмоль/л	20,76±8,36	80,22±19,90*	50,56±7,12*
α-Амілаза, мг/с-л	311,26±37,39***	205,49±31,47*	72,78±14,80
Трипсин, мкмоль/мл·хв.	10,45±1,76**	5,84±2,58**	4,70±1,97
ОПб/з, мкмоль/л	190,00±12,53	215,21±21,98	288,92±13,05*
ОПв, мкмоль/л	13,98±2,76	14,74±1,84*	19,30±0,83***
ГА, г/л	5,21±0,43	5,90±0,25***	6,84±0,31***

Примітки: * - (p<0,05), ** - (p<0,01) та *** - (p<0,001) - достовірність між групою контролю та групами щурів з введенням препарату.

процеси метаболізму колагену (табл. 1, 2). Так, про анаболізм сполучної тканини свідчило зростання на 30 добу в сироватці крові щурів вмісту ОПб/зв в 1,6 разів з (178,67±26,39 мкмоль/л) (контрольна група) до (288,92±13,05 мкмоль/л) (p<0,05), а катаболізм - зростанням ОПв в 1,5 разів до (14,74±1,84 мкмоль/л) (p<0,05) та в 1,9 разів до (19,30±0,83 мкмоль/л) (p<0,001) на 12 та 30 добу відповідно, у порівнянні з контролем (9,96±0,71 мкмоль/л), що вказувало на посилений синтез та розпад колагену.

Підвищення вмісту ГА в крові свідчило про посилення розпаду вуглеводно-білкових компонентів сполучної тканини, оскільки ГА входять до складу як протеогліканів, так і глікопротеїнів - її складових. Збільшення вмісту ГА є фактором, що характеризує запалення. Тривалий запальний процес у тканині ПЗ викликає її деструкцію. Провідну роль у деструкції тканини ПЗ відіграють протеолітичні ензими поліморфноядерних лейкоцитів, під дією яких відбувається розпад макромолекулярних комплексів, що містять ГА. Ймовірно ГА являються індукторами фіброзу та збільшення їх вмісту випереджає зміни інших показників, що характеризують функціональний стан сполучної тканини. Так, вміст ГА в крові щурів на 12 добу після введення NG-нітро-L-аргініну збільшився в 1,4 рази (до 5,90±0,25 г/л) (p<0,001), а на 30 добу - в 1,6 разів (до 6,84±0,31 г/л) (p<0,001) у порівнянні з групою контролю (до 4,27±0,18 г/л).

Через добу після введення NG-нітро-L-аргініну відмічалось різке зниження в крові в 2,2 рази (до 11,34±0,14 мкмоль/л) (p<0,05) концентрації нітритів/нітратів у порівнянні з групою контролю (32,61±4,55 мкмоль/л), тоді як на 12 добу спостерігалось її різке збільшення в 2,5 рази (до 80,22±19,90 мкмоль/л) (p<0,05) та залишалось збільшеним у 1,6 разів (до 50,56±7,12 г/л) (p<0,05) і на 30 добу.

Після першої доби спостерігалось достовірне зменшення активності α-амілази в 2,6 разів (з 96,02±20,30 мг/с-л (контроль) до 36,72±1,54 мг/с-л (p<0,05) з максимальним зниженням на другу добу в 6 разів до 16,03±1,42 мг/с-л (p<0,01)). Вже на 6 добу після введення NG-нітро-L-аргініну активність цього ензиму в сироватці крові зросла в 3,2 рази (до 311,26±37,39 мг/с-л) (p<0,001). На 12 добу відбувалося поступове зниження в 2,1 рази (до 205,49±31,47 мг/с-л) (p<0,05), але активність α-амілази все ще залишалась вище контрольної групи і вже на 30 добу зменшилася в 1,3 рази (до 72,78±14,80 мг/с-л) у порівнянні з контролем.

Трипсин є оптимальним маркером для виявлення патології ПЗ, так як він специфічний для цього органу. Достовірне зниження активності ензиму в 5,4 рази (з 4,19±0,92 мкмоль/мл·хв.) (контрольна група) (до 0,77±0,08 мкмоль/мл·хв.) (p<0,01) спостерігалось вже після першої доби з наступним максимальним зростанням на 2 добу після введення NG-нітро-L-аргініну в 3,1 рази (до 13,00±1,05 мкмоль/мл·хв.) (p<0,01), на 6 добу - в 2,5 рази (до 10,45±1,76 мкмоль/мл·хв.) (p<0,01) з поступовим зниженням до показника групи контролю при 30-добовому введенні препарату.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Експериментальне введення неспецифічного інгібітора NOs NG-нітро-L-аргініну викликало відгук ацинарних клітин ПЗ щурів у вигляді пригнічення накопичення секрету, що може бути причиною дистрофічних та атрофічних змін. Оксидативний стрес, викликаний накопиченням ендогенних проокисних ферментів, стимулював формування фіброзної тканини.

2. Найбільш помітні дисциркуляторні та диссекреторні зміни спостерігалися на 12 добу, після чого реакція помітно уповільнювалася у зв'язку з компенсаторною відповіддю організму. На 30 добу після введення NG-нітро-L-аргініну в перидуктулярній зоні починали формуватися тяжі фіброзної тканини з паралельним збільшенням в крові маркеру синтезу колагену - ОПб/зв (p<0,05).

3. При тривалому введенні NG-нітро-L-аргініну розвивалася функціональна недостатність ПЗ, що проявлялася зниженням у крові активності панкреатичних ензимів - α-амілази та трипсину на 30 добу експерименту та супроводжувалася змінами функціонального стану ацинарних клітин ПЗ (пригнічення накопичення секрету), що відмічались при морфологічному дослідженні.

4. Зниження концентрації нітритів/нітратів спостер-

ігалосся після першої доби введення інгібітору ($p < 0,05$), а в подальшому відбувалося її поступове зростання, яка з 12 доби перебільшувала вихідні показники ($p < 0,05$).

Отримані результати вказують на доцільність про-

довження подальшого вивчення особливостей структури ПЗ при її фіброзній трансформації в умовах дефіциту оксиду азоту та можливості переродження в аденокарциному.

Список літератури

- Винокурова Л. В. Диагностическое значение оксида азота и малонового диальдегида в диагностике обострения хронического панкреатита / Л. В. Винокурова, О. И. Березина [и др.] // Леч. врач. - 2011. - № 2. - С. 39-43.
- Губергриц Н. Б. Клиническая панкреатология / Н. Б. Губергриц, Т. Н. Христинич. - Донецк : Лебедь, 2000. - 416 с.
- Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. / Камышников В. С. - [Т. 2, 2-е изд.]. - Беларусь, 2002. - 463 с. : ил. (75-77 с.).
- Крилова О. О. Роль NO в развитии хронического панкреатита / О. О. Крилова // Буковинський медичний вісник. - 2011. - Т. 15, № 2 (58). - С. 218-221.
- Лазебник Л. Б. Роль оксида азота (NO) в патогенезе некоторых заболеваний органов пищеварения / Л. Б. Лазебник, В. Н. Дроздов, Е. Н. Барышников // Эксперим. и клин. гастроэнтерол. - № 2. - 2005. - С. 4-11.
- Метельская В. А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / В. А. Метельская, Н. Г. Гуманова // Клиническая лаб. диагностика. - 2005. - № 6. - С. 15-18.
- Осадчук М. А. Белковосвязанный оксипролин плазмы крови при остром вирусном гепатите / М. А. Осадчук, В. М. Капустин // Лабораторное дело. - 1987. - № 7. - С. 16-18.
- Степанов Ю. М. L-аргинин : свойства, применение в медицине, токсичность и аргинин-индуцированное поражение поджелудочной железы / Ю. М. Степанов, И. В. Твердохлеб, О. Ю. Сиренко // Сучасна гастроентерологія. - 2012. - № 3 (65). - С. 63-70.
- Periacinar stellate-shaped cells in rat pancreas: Identification, isolation and culture / M. V. Apte, P. S. Haber, T. L. Applegate [et al.] // Gut. - 1998. - Vol. 43. - P. 128-33.
- 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, U. C. Garg // Neurochemical research. - 1993. - Vol. 18 (10). - P. 1063-6.
- Fürstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease / Fürstermann U. // Pflugers Arch. - 2010. - Vol. 459 (6). - P. 923-39.

Бабій А.М.

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА У КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. При экспериментальном введении неспецифического ингибитора NOs NG-нитро-L-аргинина наиболее значительные дисциркуляторные и диссекреторные изменения наблюдались на 12 сутки, после чего реакция заметно замедлялась в связи с компенсаторным ответом организма. На 30 сутки в перидуктулярной зоне формировались тяжи фиброзной ткани, о чем также свидетельствовало увеличение в крови маркера синтеза коллагена - ОПб/св ($p < 0,05$). Функциональная недостаточность ПЖ проявлялась снижением в крови активности панкреатических энзимов ($p < 0,05$), а при морфологическом исследовании - гипосекрецией ацинарных клеток. Максимальное снижение концентрации нитритов/нитратов наблюдалось после первых суток ($p < 0,05$) с постепенным максимальным повышением на 12 сутки ($p < 0,05$).

Ключевые слова: оксид азота, NG-нитро-L-аргинин, поджелудочная железа, экспериментальный панкреатит, фиброз.

Babiy O.M.

THE MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF THE PANCREAS IN THE CONDITIONS OF NITRIC OXIDE DEFICIENCY IN RATS IN EXPERIMENT

Summary. Non-specific inhibitor of NOs NG-nitro-L-arginine was administrated for the duration of the experiment, and the most significant changes (discirculation and dissecretion) were observed on the 12th day, whereupon the reaction slows due to a compensatory response. On the 30th day of experiment tiny bands of fibrous tissue were formed, which also evidenced by the increase of collagen synthesis markers in blood - protein-bound hydroxyproline ($p < 0,05$). Incompetence of pancreatic cells was manifested by the reduced activity of pancreatic enzymes ($p < 0,05$), and the visible hyposecretion of acinar cells on the morphological study. The maximum decrease of nitrite / nitrate concentration was observed after the first day ($p < 0,05$), with a gradual increase to a maximum on 12-th day ($p < 0,05$).

Key words: nitric oxide, NG-nitro-L-arginine, pancreas, experimental pancreatitis, fibrosis.

Рецензент - д.мед.н., проф. Шевченко Б.Ф.

Стаття надійшла до друку 17.06.2015 р.

Бабій Олександр Михайлович - к.мед.н., ст.наук.співроб. відділу хірургії органів травлення ДУ "Інститут гастроентерології НАМН України"; +38 0562 27-05-59, +38 067 902-00-42; Aleksandr_babiy@ukr.net

© Усенко О.Ю., Радьога Я.В., Гребенюк Д.І., Таран І.В., Стукан О.К.

УДК: 616.33:617-7

Усенко О.Ю.¹, Радьога Я.В.², Гребенюк Д.І.², Таран І.В.², Стукан О.К.

¹Національний Інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України (вул. Героїв Севастополя, 30, м. Київ, Україна, 03680), ²Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, курс "Основи ендоскопічної та лазерної хірургії" (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

ОПТИМІЗАЦІЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ СИМЕТРИЧНИХ ВИРАЗКОВИХ УРАЖЕНЬ ШЛУНКУ