

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН АКТИВНОСТІ АЦЕТИЛХОЛІНЕСТЕРАЗИ В АРТИФІЦІЙНОМУ СЕЧОВОМУ МІХУРІ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Мета дослідження — вивчення активності ацетилхолінестерази в неоцисті через 3, 6 і 12 міс. після ілеоцистопластики. Експериментальні дослідження проведені на 21 самці mini-pigs віком від 6 до 14 міс., тривалість експерименту становила 12 міс. Відомо, що ацетилхолінестерази (АХЕ) належить важлива роль у процесах нейрогуморальної та синаптичної передачі, а при інгібуванні АХЕ передача нервових імпульсів знижується за рахунок того, що звільнення рецепторів від ацетилхоліну проходить повільно (тільки за допомогою дифузії). Особливості активності АХЕ можна пояснити денерваційним синдромом, комплексом змін, що виникають у постсинаптичних нейронах, органах і тканинах після припинення нервового впливу на ці структури. Основним проявом денерваційного синдрому міоцитів є зникнення кінцевої пластинки, поява нових ацетилхолінових рецепторів на всьому протязі м'язового волокна.

Ключові слова: артіфіційний сечовий міхур, ацетилхолінестераза, радикальна цистектомія.

FEATURES OF THE ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY CHANGES IN THE ARTIFICIAL BLADDER (EXPERIMENTAL STUDY)

The aim of investigation was to study the activity of acetylcholinesterase in the neobladder at 3, 6, and 12 months after ileocystoplasty. Experimental studies were conducted on 21 mini-pigs females. The age of mini-pigs was from 6 to 14 months. The duration of the experiment was 12 months. Acetylcholinesterase plays an important role in the processes of neurohumoral and synaptic transmission. The inhibited AChE makes the transmission of nerve impulses reduce due to the fact that the release of acetylcholine receptors occurs slowly (only through diffusion). The peculiarities of the activity of acetylcholinesterase can be explained by the denervation syndrome, a complex of changes that occur in postsynaptic neurons, organs and tissues after fallout of the nervous influence on these structures. The main manifestation of the denervation syndrome of myocytes is the disappearance of the end plate, the appearance of new acetylcholine receptors along the entire length of the muscle fiber.

Key words: neobladder, acetylcholinesterase, radical cystectomy.

УДК 611.24:616.12-008.331.1+612.273

Р. В. Янко, канд. біол. наук,

О. Г. Чака, канд. біол. наук,

М. І. Левашов, д-р мед. наук

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЕВОЇ ТКАНИНИ СПОНТАННО-ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ ПЕРЕРИВЧАСТОЇ ГІПОКСІЇ*Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ*

Загальновідомо, що артеріальна гіпертензія — одне з поширених захворювань, на яке страждають 20–30 % дорослого населення [1]. Широке розповсюдження поєднаної патології органів дихання і кровообігу потребує комплексного підходу не тільки до лікування таких хворих, а й до вдосконалення існуючих методів ранньої діагностики та профілактики даних захворювань. Тісний функціональний взаємозв'язок серцево-судинної та дихальної систем значною мірою зумовлює обтяжливий вплив серцево-

судинної патології на перебіг пульмонологічних захворювань, і навпаки [2]. Механізми розвитку змін у легенях при артеріальній гіпертензії досліджені недостатньо.

Сьогодні переривчаста нормобарична гіпоксія (ПНГ) все більш широко використовується в клінічній практиці для лікування і профілактики багатьох захворювань серцево-судинної, дихальної, ендокринної, травної та імунної систем, а також для підвищення неспецифічної резистентності й адаптаційних можливостей організму [3; 4].

Роботи, у яких би досліджувався вплив тривалої дії ПНГ на морфофункціональний стан легень спонтанно-гіпертензивних щурів відсутні. Більшість авторів вивчали вплив гіпоксичних газових сумішей на функціональну активність легень нормотензивних тварин [5; 6].

Медикаментозні методи лікування як артеріальної гіпертензії, так і патології легень не завжди дають позитивний результат. У зв'язку з цим дослідження морфофункціонального стану легень у щурів зі стійкою артеріальною гіпертензією і впливу на них ПНГ становить безперечний практичний інтерес.

Мета нашої роботи — дослідити вплив переривчастої нормобаричної гіпоксії на морфофункціональні показники стану респіраторного відділу легень щурів лінії SHR.

Матеріали та методи дослідження

Експеримент проведено у весняний період на 24 спонтанно-гіпертензивних (лінія SHR) щурах-самцях віком 4 міс. Артеріальний тиск у щурів вимірювали в умовах віварію неінвазивним методом на хвостовій артерії за допомогою сфігмоманометра (S-2 "SHE", Німеччина). В експеримент брали тварин із систолічним тиском не нижче 145 мм рт. ст. Піддослідних щурів щодня розміщували в герметичній камері, у яку з мембранного газорозподільного елемента подавали гіпоксичну газову суміш (12 % кисню в азоті) у переривчастому режимі: 15 хв дексигенація/15 хв реоксигенація протягом 2 год. Інші 22 год тварини дихали атмосферним повітрям. Тривалість експерименту становила 28 дб. Щурів виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом. Роботу з лабораторними щурами проводили з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (2006).

По закінченні експерименту відбирали зразки тканини легень для гистоморфологічних і біохімічних досліджень. Гістологічні препарати виготовляли за стандартною методикою: фіксували в рідині Буена, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації (від 70 до 96°) та діоксані. Отримані зразки заливали в парафін. Парафінові зрізи завтовшки 5–6 мкм виготов-

ляли на санному мікротомі. Забарвлення отриманих зрізів здійснювали оглядовими фарбниками: гематоксилином Бемера й еозинном. Для візуалізації елементів сполучної тканини застосовували методи дво- та трикольорового забарвлення за Ван Гізоном і Массоном [7]. З використанням цифрової фотокамери мікропрепарати фотографували на мікроскопі "Nicon" (Японія). На цифрових зображеннях мікропрепаратів здійснювали морфометрію (при збільшенні у 200 разів) за допомогою комп'ютерної програми "Image J".

Для проведення біохімічних досліджень виділені легені відмивали в фізіологічному розчині від залишків крові, висушували до постійної маси. Для визначення вмісту загального оксипроліну зразки легень гідролізували у 6 N розчині HCl. В отриманих екстрактах фотометрично визначали вміст оксипроліну методом окиснення його в реакції з хлораміном Т. Ліпіди екстрагували з тканини легень сумішшю хлороформу з метанолом у співвідношенні 2 : 1. В отриманому екстракті визначали вміст ліпідів фосфорновалеріановим методом з використанням стандартного набору реактивів фірми «Філісіт Діагностика».

Статистичну обробку даних здійснювали методами варіаційної статистики за допомогою комп'ютерної програми Statistica 5.0. Вірогідність різниці між контрольними і дослідними групами оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Вірогідною вважали різницю між порівнюваними серіями досліду при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Респіраторний відділ легень (РВЛ) представлений респіра-

торними бронхіолами (РБ), альвеолярними ходами (АХ), альвеолярними мішечками (АМ) та альвеолами. На гістологічних зрізах неможливо чітко виявити структурні відмінності між АХ і АМ. Також не завжди вдається відрізнити периферичні бронхіоли від АХ. Тому їх прийнято розглядати як одну групу [8].

На гістологічних зрізах легень дослідної групи щурів просвіти РБ, АХ та АМ були вільними. Десквамації альвеолярного епітелію не відмічено (рис. 1).

Виявлено відмінності в морфометричних показниках стану РВЛ між контрольними і дослідними щурами. Так, легені тварин після впливу ПНГ мали менший діаметр (на 9 %) та площу поперечного просвіту альвеол (на 20 %; $p < 0,05$), вірогідно меншу ширину РБ, АХ і АМ (на 14 %). Показник відношення діаметра РБ, АХ і АМ до подвійної глибини альвеоли зменшився на 13 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Водночас зменшення розмірів альвеол компенсується вірогідним збільшенням їхньої кількості та щільності розташування на 26 і 29 % відповідно. Це, у свою чергу, збільшує загальну площу альвеолярної поверхні, що сприяє активації процесів газообміну (табл. 1).

У дослідних щурів виявлено вірогідне зменшення товщини міжальвеолярної перегородки на 17 %, що може свідчити про зменшення кількості елементів сполучної тканини і покращання альвеолярно-капілярного обміну газів (див. табл. 1).

Складовою частиною всіх органів, у тому числі легень, є сполучна тканина (СТ). У легеневій стромі переважають елементи механічного функціонування — колагенові та еластинові волокна. Після впливу

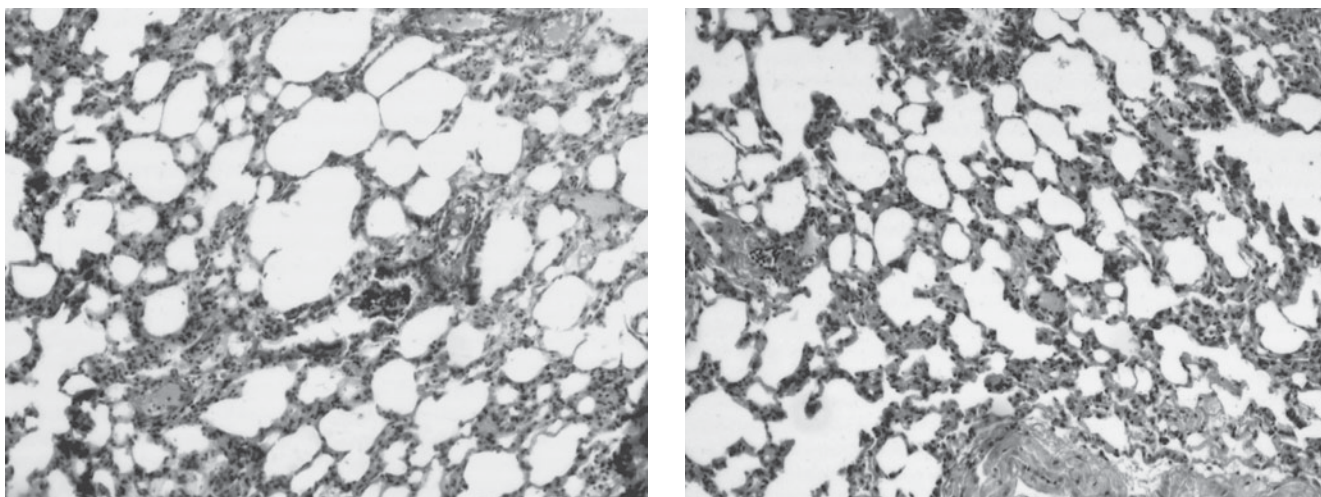


Рис. 1. Мікрофотографія респіраторного відділу легень контрольної (*а*) та дослідної (*б*) тварини. Забарвлення за Ван Гізоном. Збільшення $\times 200$

ПНГ, при забарвленні гістологічних препаратів легень за Ван Гізоном і Массоном, у РВЛ не відмічено суттєвих відміннос-

тей між інтенсивністю забарвлення елементів СТ. Найбільшу кількість колагенових волокон виявляли навколо РБ, кровнос-

них судин, менше — у міжальвеолярних перегородках (див. рис. 1).

Визначення концентрації оксипроліну, маркерної амінокислоти колагену, часто застосовують для аналізу стану активності СТ у різних органах [9]. Нами виявлено тенденцію до зниження вмісту загального оксипроліну в легенях дослідних щурів (див. табл. 1). Це може свідчити про порушення динамічної рівноваги між деструкцією та біосинтезом колагену. Такі зміни характеризують перевагу процесів деградації колагену та вказують на зменшення відносної маси СТ у легенях.

Одна з особливостей тканини легень — це високий вміст ліпідів, порівняно з іншими органами. Ліпіди, головним чином фосфоліпіди, синтезовані в тканині легень і депоновані з крові, використовуються для синтезу сурфактанта. Нами виявлено, що після впливу ПНГ концентрація загальних ліпідів у тканині легень була вірогідно більшою на 34 % порівняно з контролем (див. табл. 1). Кількість загальних ліпідів прямо корелює з вмістом фосфоліпі-

Таблиця 1

Показники стану респіраторного відділу легень щурів контрольної та дослідної груп, $M \pm m$, $n=12$

Показник	Контроль	Переривчаста гіпоксія
Морфометричні показники		
Середній діаметр просвіту альвеоли, мкм	22,7 \pm 0,7	20,6 \pm 0,5
Глибина альвеоли, мкм	22,0 \pm 0,9	21,8 \pm 0,5
Ширина входу в альвеолу, мкм	14,4 \pm 0,7	14,6 \pm 0,3
Площа поперечного перерізу альвеоли, мкм ²	845 \pm 20	674 \pm 15*
Кількість альвеол (на 370 мм ²), шт.	53,1 \pm 1,6	67,2 \pm 2,1*
Щільність розміщення альвеол, шт./мм ²	0,14 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01*
Ширина просвіту респіраторних бронхіол, альвеолярних ходів і мішечків, мкм	82,7 \pm 2,6	70,9 \pm 3,1*
Товщина міжальвеолярної перегородки, мкм	4,6 \pm 0,4	3,8 \pm 0,1*
Відношення ширини входу в альвеолу до її глибини	0,65 \pm 0,02	0,67 \pm 0,02
Відношення ширини просвіту респіраторних бронхіол, альвеолярних ходів і мішечків до подвійної глибини альвеоли	1,88 \pm 0,08	1,63 \pm 0,09*
Біохімічні показники		
Концентрація оксипроліну в тканині легень, мкг/мг	6,62 \pm 0,99	6,42 \pm 0,45
Концентрація загальних ліпідів у тканині легень, мг/г	45,1 \pm 3,6	60,6 \pm 5,0*

Примітка. * — вірогідні відмінності порівняно з контролем ($p < 0,05$).

дів, які входять у сурфактант легень. Відомо, що фосфоліпиди визначають повітряність легень та ефективність внутрішньолегеневого газообміну [10].

Раніше нами було вивчено вплив ПНГ на морфофункціональний стан легень нормотензивних щурів лінії Вістар. Виявлено, що під впливом тривалої дії переривчастої гіпоксії більшість досліджуваних морфометричних і біохімічних показників у легенях цих щурів змінювалися в значно меншій мірі порівняно зі спонтанно-гіпертензивними тваринами [6].

Іншими авторами було показано, що після довготривалих сеансів ПНГ відбуваються адаптаційні ультраструктурні перебудови як в епітеліальному, так і в ендотеліальному компонентах легневих альвеол у формі посилення метаболічної функції. Також підвищувалася фагоцитарна активність легневих макрофагів, активізувалася діяльність сурфактантної системи легень, що проявлялося різко вираженою гіперплазією і збільшенням об'єму осміофільних пластинчастих тілець [5].

Висновок

Таким чином, вплив переривчастої нормобаричної гіпоксії протягом 28 діб приводить до зменшення розмірів альвеол у спонтанно-гіпертензивних щурів. Проте кількість альвеол і щільність їхнього розташування на одиницю площі зростає. Це, у свою чергу, збільшує загальну площу альвеолярної поверхні, що сприяє підвищенню ефективності процесів газообміну. Показано, що у дослідних щурів зменшуються товщина міжальвеолярної перегородки та концентрація оксипроліну в тканині легень. Це може свідчи-

ти про зменшення кількості елементів сполучної тканини і покращання альвеолярно-капілярного обміну газів. Зростання концентрації загальних ліпідів у легенях щурів, які дихали гіпоксичною газовою сумішшю, може свідчити про збільшення вмісту фосфоліпідів легеневого сурфактанта, який перешкоджає злипанню стінок альвеол і сприяє поліпшенню повітряності легень та ефективності внутрішньолегеневого газообміну.

Ці результати можуть мати не тільки теоретичне значення, а й становити практичний інтерес при використанні гіпоксичних газових сумішей у санаторно-курортних або лікувальних закладах для підвищення функції газообміну легень.

Перспективи подальших досліджень. Планується визначити оптимальні параметри режимів впливу гіпоксичними газовими сумішами для використання в комплексному лікуванні патології легень у людей з артеріальною гіпертензією.

Ключові слова: переривчаста гіпоксія, респіраторний відділ легень, спонтанно-гіпертензивні щури.

4. Navarrete-Opazo A., Mitchell G. S. Therapeutic potential of intermittent hypoxia: a matter of dose. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2014. Vol. 307, № 10. P. 1181–1197. doi: 10.1152/ajpregu.00208.2014.

5. Сапаров К. А., Нурмухан Г. С., Султанова А. Ж. Морфологические аспекты респираторного отдела легких при длительной гипоксической гипоксии. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2015. № 12–4. С. 677–680.

6. Yanko R., Levashov M., Chaka E., Litovka I. Effect of intermittent normobaric hypoxia on the morphological changes in the respiratory part of lungs in different seasons of the year. *Journal of Education, Health and Sport.* 2018. Vol. 8, № 5. P. 244–252.

7. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии / Коржевский Д. Э. и др. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2013. 127 с.

8. Вейбель Э. Р. Морфометрия легких человека. Москва: Медицина, 1970. 175 с.

9. Li P., Wu G. Roles of dietary glycine, proline, and hydroxyproline in collagen synthesis and animal growth. *Amino Acids.* 2018. Vol. 50, № 1. P. 29–38. doi: 10.1007/s00726-017-2490-6.

10. Симонян Л. Г. Липиды и их роль в развитии легочных заболеваний. *Медицинская наука Армении НАН РА.* 2013. Т. LIII, № 4. С. 66–71.

Надійшла до редакції 23.05.2019

Рецензент д-р мед. наук, проф.

Л. С. Годлевський

дата рецензії 27.05.2019

ЛІТЕРАТУРА

1. Poulter N. R., Prabhakaran D., Caulfield M. Hypertension. *Lancet.* 2015. № 386 (9995). P. 801–812. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61468-9. Epub 2015 Mar 29.

2. Imaizumi Y., Eguchi K., Kario K. Lung disease and hypertension. *Pulse (Basel).* 2015. Vol. 2, № 1/4. P. 103–112. doi: 10.1159/000381684.

3. Levashov M. I., Berezovskii V. A., Chaka E. G., Yanko R. V. Effect of intermittent normobaric hypoxia on total oxygen consumption and efficiency of cardio-respiratory mechanisms of oxygen supply in patients with a high risk of chronic obstructive pulmonary disease. *Fiziol. Zh.* 2013. Vol. 59, № 4. P. 57–64.

УДК 611.24:616.12-008.331.1+612.273

Р. В. Янко, О. Г. Чака, М. І. Левашов

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЕВОЇ ТКАНИНИ СПОНТАННО-ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ ПЕРЕРИВЧАСТОЇ ГІПОКСІЇ

Мета роботи — дослідити вплив переривчастої нормобаричної гіпоксії (ПНГ) на морфофункціональний стан легеневої тканини спонтанно-гіпертензивних щурів (лінія SHR). Дослідження проведено на 24 щурах-самцях, яким щодня протягом 28 днів подавали гіпоксичну газову суміш (12 % O₂) у переривчастому режимі: 15 хв деоксигенація / 15 хв реоксигенація протягом 2 год. Морфофункціональні зміни в легенях досліджували за допомогою морфологічних і біохімічних методів. Виявлено, що після впливу ПНГ у щурів спостерігали зменшення розмірів альвеол. Проте їхня кількість і щільність розташування на одиницю площі зросла, що вказує на збільшення загальної площі альвеолярної поверхні й активацію процесів газообміну. У дослідних щурів виявили вірогідне зниження товщини міжальвеолярної перегородки, тенденцію до зниження оксипроліну в легенях, що може свідчити про зменшення кількості елементів сполучної тканини та поліпшення альвеолярно-капілярного обміну газів.

Ключові слова: переривчаста гіпоксія, респіраторний відділ легень, спонтанно-гіпертензивні щури.

UDC 611.24:616.12-008.331.1+612.273

R. V. Yanko, O. G. Chaka, M. I. Levashov

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN THE LUNG TISSUE OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS AFTER THE EFFECT OF INTERMITTENT HYPOXIA

The purpose of the work is to investigate the effect of intermittent normobaric hypoxia (INH) on the morphofunctional state of the lungs tissue of spontaneously hypertensive rats (SHR line). The study was conducted on 24 male rats, which were daily given (during 28 days) a hypoxic gas mixture (12% O₂) in a intermittent mode: 15 minutes deoxygenation / 15 min reoxygenation for 2 hours. Morphofunctional changes in the lungs were studied using morphological and biochemical methods. It was found that after the effects of INH in rats, there was a decrease in the size of the alveoli. However, their number and density of location per unit area increased, indicating an increase in the total area of the alveolar surface and the activation of gas exchange processes. In experimental rats, there was a significant decrease in the thickness of the interalveolar membrane, a tendency to decrease oxyproline in the lungs, which may indicate a decrease in the number of connective tissue elements and an improvement in the alveolar-capillary exchange of gases.

Key words: intermittent hypoxia, respiratory part of the lungs, spontaneously hypertensive rats.

УДК 616.853:616-079

О. Е. Духовський¹, канд. мед. наук,

Г. О. Сон²

ОСОБЛИВОСТІ ЕЛЕКТРИЧНОЇ АКТИВНОСТІ СТРУКТУР МОЗКУ ЩУРІВ ІЗ ПЕНТИЛЕНЕТЕТРАЗОЛОВИМ КІНДЛІНГОМ ЗА УМОВ ЕЛЕКТРИЧНОГО ПОДРАЗНЕННЯ БЛУКАЮЧОГО НЕРВА

¹ Комунальне некомерційне підприємство «Міська клінічна лікарня швидкої та невідкладної допомоги ім. проф. О. І. Мещанінова», Харків,

² Одеський національний медичний університет

Вступ

Електричні подразнення (ЕП) блукаючого нерва спричинюють значні зміни з боку показників електрокортикограми (ЕКоГ) [7; 10]. Останнім часом встановлено, що важливими є множинні зміни в ділянках мозку, які можуть визначатись у вигляді зменшення потужності спектра низькочастотних коливань, що є одним із механізмів

розвитку протисудомного впливу подразнення блукаючого нерва [10].

Установлено, що динамічний характер взаємодії між окремими структурами мозку найбільш репрезентативно подають у вигляді мультиграфа, який будують за показниками як біоелектричної активності мозку [3; 4; 6], так і функціонального стану окремих ділянок — результатами вимірювання погли-

нання глюкози за допомогою позитронної емісійної томографії [8]. Побудова подібного мультиграфа дозволяє визначитися із функціональними зв'язками між окремими утвореннями мозку, причетними до механізмів виникнення та пригнічення судомних проявів [6; 8]. Відомо, що мозочок є частиною антиепілептичної системи мозку [2; 5], функція якого залишається нез'ясованою в контексті реалізації ефектів ЕП блукаючого нерва на епілептиформні прояви.

© О. Е. Духовський, Г. О. Сон, 2019