

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧЕРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра физиологии человека и животных

**ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ РАЗВИТИЯ ЯЗВЫ ЖЕЛУДКА
СТРЕССОРНОГО ГЕНЕЗА У КРЫС**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4-го курса 421 группы

Направление подготовки 06.03.01.- Биология

Биологического факультета

Бозиной Надежды Сергеевны

Научный руководитель:

Ассистент кафедры физиологии

человека и животных _____ Синдеев С. С.

Зав. кафедрой физиологии

человека и животных

д.б.н., доцент _____ О.В Семячкина-Глушковская

Саратов – 2016

Введение. Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки является важной проблемой современной медицины. Этим заболеванием страдают приблизительно 10% населения земного шара.

Очень серьезными являются последствия язвенной болезни, такие как перфорация (прободение) язвы, развивающаяся в результате деструкции всех слоёв стенки желудка и сквозное её прободение. Является острым процессом, поэтому требует срочной медицинской (хирургической) помощи, так как в результате перфорации, через сквозное отверстие стенки желудка, выходит желудочное содержимое, в результате которого развивается перитонит.

Язвенная болезнь встречается у людей любого возраста, но чаще 30-40 лет. Мужчины болеют в 6-7 раз чаще, чем женщины (особенно язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки).

Целью данной работы является исследование влияния стресс-индуцированного язвообразования на состояние органов и генерацию оксида азота у крыс.

Для выполнения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить стресс-индуцированные изменения наиболее чувствительных к действию стресса органов и слизистой желудка.
2. Измерить концентрацию оксида азота в крови и тканях желудка у здоровых крыс и крыс с язвой желудка.

Основное содержание работы. Эксперимент проводился на самцах белых беспородных крыс (n=39). Животные содержались в виварии СГУ им. Чернышевского. За всеми животными осуществлялся уход в соответствии с руководством по уходу и использованию лабораторных животных.

В ходе эксперимента здоровых крыс (n=32) подвергали иммобилизационному стрессу на протяжении 4 недель и дополнительно вводили преднизолон в дозе 25 мг/кг. По истечении каждой недели часть крыс (n=8) умерщвляли и наблюдали за состоянием органов по их массе, проводили морфологические исследования на наличие язв в желудке и

выполняли биохимический анализ на содержание NO в крови и тканях органа. В качестве группы контроля выступили здоровые животные (n=7), не подвергавшиеся воздействию стресса и не получавших инъекций преднизолона.

После измерения всех результатов проводилась статистическая обработка данных по методу Стьюдента. В основе метода обработки лежит предварительное упорядочение, систематизация первичных данных и вычисление их статистических характеристик.

В ходе эксперимента был применен метод органометрии. С помощью него производилась оценка размера и массы органов, наиболее чувствительных к стрессорному воздействию, как надпочечники, тимус, селезенка.

Навеску ткани, отмытую от крови, быстро измельчают ножницами или пропускают через металлический пресс и растирают в ступке с кварцевым песком.

Для того, чтобы определить концентрацию NO в крови, кровь забирали в пробирки с помощью декапитации крыс. Кровь поместили в центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 30 минут при 3000 оборотов. После этого выделили плазму и добавили в нее 1 мл NaOH и 4 мл ZnSO₄. Далее пробирки ставили на водяную баню на 6 минут и для остужения поместили их в стакан с холодной водой. Профильтровали содержимое пробирок через обеззоленный фильтр. После этого взяли 900 мкл фильтрата и добавили к нему 100 мкл NH₃, 100 мкл HCl, 600 мкл NaNO₂ для усиления возникающего впоследствии окрашивания. Приливали 1,8 мл раствора Грисса, который готовили предварительно путем смешивания равных объемов раствора 1 (0,5 г сульфаниловой кислоты растворяли в 150 мл 12% раствора уксусной кислоты) и раствора 2 (0,2 г α-нафтиламина, кипятили 15 мин с 20 мл воды, фильтровали и прибавляли 180 мл 12% раствора уксусной кислоты).

Через 15 минут измеряли интенсивность окраски на спектрофотометре (LEKI SS2107) при длине волны 538 нм. Параллельно с исследованием

сыворотки каждый раз проводили холостую (вода для инъекций) и контрольную (фиксанал 1 мкг/мл нитрита) пробы.

Массовую концентрацию нитрита в микрограммах на 1 мл вычисляли по формуле:

$$X=12(C_0-C_1),$$

где C_0 - массовая концентрация нитрита, найденная по градуировочному графику или рассчитанная по уравнению регрессии;

C_1 - массовая концентрация нитрита в холостой пробе.

Статистическая обработка экспериментальных данных осуществлялась с помощью критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при $P<0,05$. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего.

Через неделю после введения преднизолона наблюдалось существенное ухудшение состояния всех животных. Масса тела, тимуса, селезенки уменьшалась, надпочечники увеличились (Табл. 1). Уровень NO как в крови, так и в тканях желудка существенно увеличивался (Табл. 2). Так, в крови содержание NO повышалось в 1,5 раза, в тканях желудка - в 2 раза. Данные факторы свидетельствуют о развитии стрессорной реакции в организме животных под воздействием высоких доз преднизолона.

Таблица 1. Изменение органомерических показателей в ходе эксперимента

	Период исследования				
	Контроль n=10	1 неделя n=8	2 неделя n=8	3 неделя n=8	4 неделя n=15
Надпочечники, мг	26 \pm 2	35 \pm 2	48 \pm 3	54 \pm 5	62 \pm 7
Тимус, мг	128 \pm 4	92 \pm 5	74 \pm 8	23 \pm 5	5 \pm 7
Селезенка, мг	541 \pm 8	473 \pm 9	403 \pm 10	338 \pm 12	224 \pm 11
Масса тела,г	262 \pm 6	231 \pm 4	212 \pm 7	192 \pm 9	175 \pm 5

Таблица 2. Содержание NO

	Контроль n=10	I неделя n=8	II неделя n=8	III неделя n=8	IV неделя n=15
NO, мкг/мл в крови	0,28±0,05	0,42 ±0,06	0,58±0,05	0,63±0,04	1,2±0,07
NO, мкг/мл в тканях желудка	0,33±0,03	0,67± 0,08	0,72±0,07	0,70±0,04	1,9±0,09

В желудке появлялись язвы в количестве 8, две из которых были крупные и шесть точечные (Табл. 3).

Таблица 3. Изменение встречаемости язв желудка в динамике эксперимента

	Контроль n=10	I неделя n=8	II неделя n=8	III неделя n=8	IV неделя n=15
Язвы, шт	0	8	15	22	41

В последующие сроки наблюдения на протяжении трех недель у всех животных отмечалось постепенное ухудшение состояния, что выражалось в дальнейшем снижении массы тела, селезенки, тимуса и увеличении массы надпочечников. Количество язв в желудке также увеличивалось: 2 недели - 15, 4 из которых крупные и 11 точечные. Через 3 недели: 22, 10 из которых крупные и 12 точечные. Содержание NO в крови и тканях желудка увеличивалось последовательно в соответствии с периодом исследования. Данные результаты отражают снижение резервных возможностей организма под хроническим влиянием больших доз преднизолонa. Однако, ни у одного животного не было выявлено язвенных геморрагий.

Наиболее яркие результаты были получены спустя месяц эксперимента. Масса тела и исследуемых органов животных максимально

изменялись: масса тела снижалась в 1,5 раза, тимуса - в 25 раз, селезенки - в 2,4 раза, надпочечники увеличились в 2,3 раза.

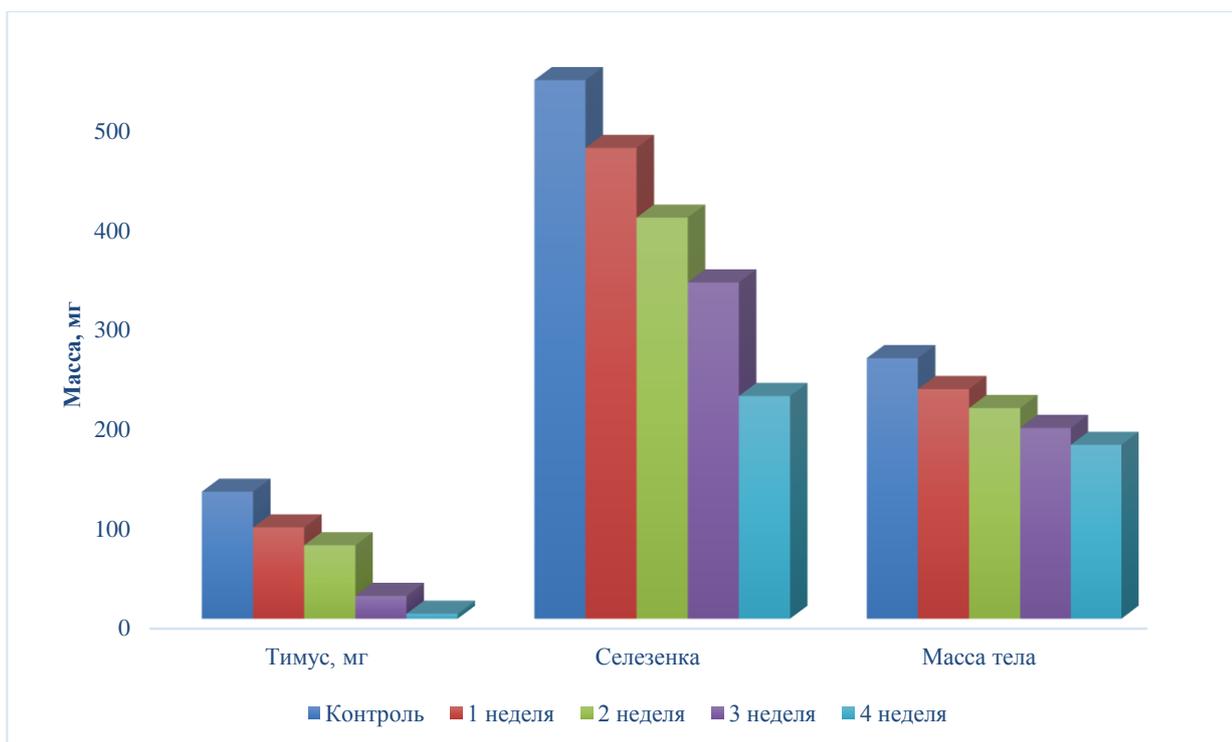


Рис. Динамика изменения массы внутренних органов крыс под действием хронического стресса и введения преднизолона.

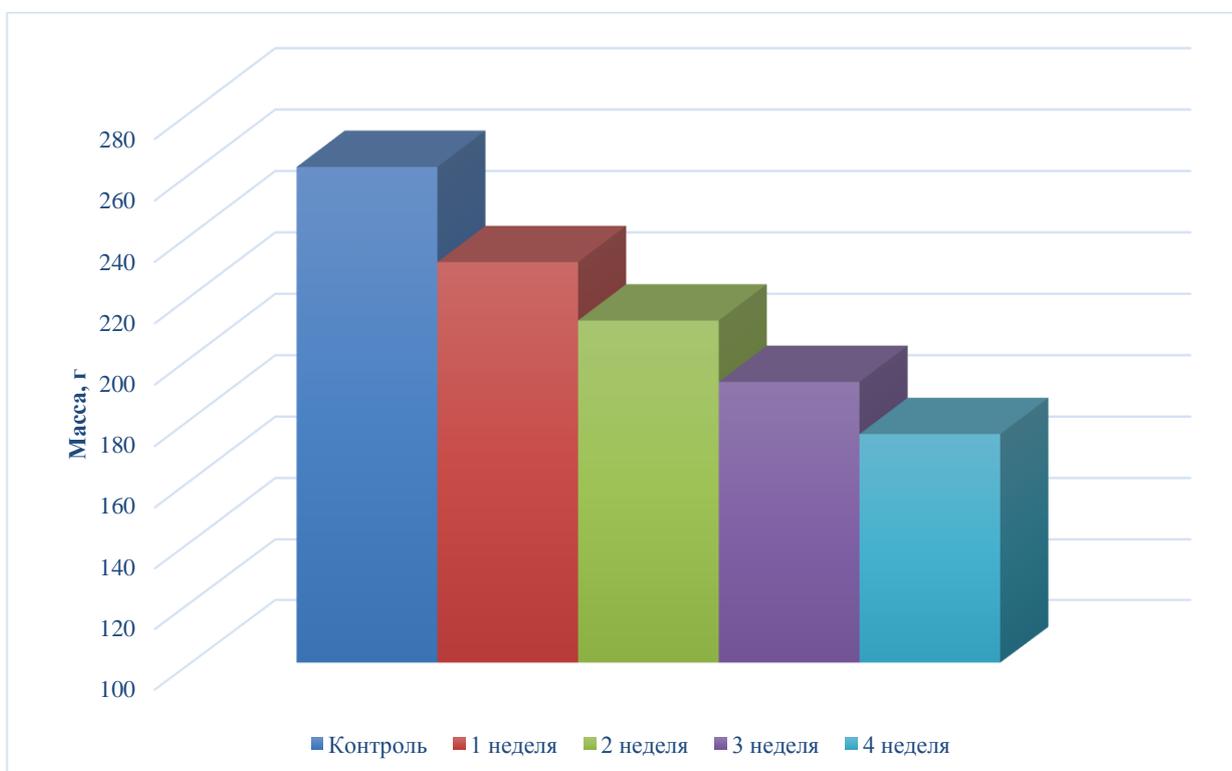


Рис. Динамика изменения массы тела крыс под действием хронического стресса и введения преднизолона

Количество язв прогрессивно увеличивалось и достигало 41, из которых 22 были крупными и 19 точечными (Рис. 1). Уровень NO повышался в крови в 4,2 раза, в тканях желудка - в 5,7 раза. 23% (12 крыс) от общего числа животных умирали (Рис. 2).

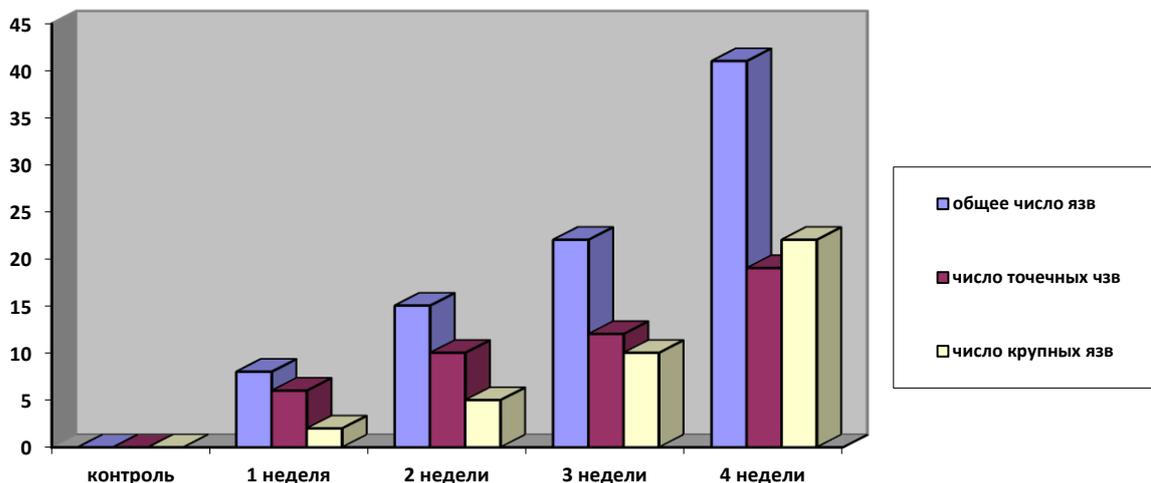


Рис. 1 Изменение числа язв желудка под влиянием длительного введения преднизолона.

Данные результаты указывают на срыв механизмов адаптации и резервных возможностей организма под влиянием длительного воздействия сверхфизиологических доз преднизолона, что сочеталось с высоким содержанием NO в крови и желудке. При этом развитие язвенных геморрагий на фоне критических изменений в массе тела и органов в этих условиях приходилось на максимальное увеличение продукции NO в исследуемых биологических тканях.

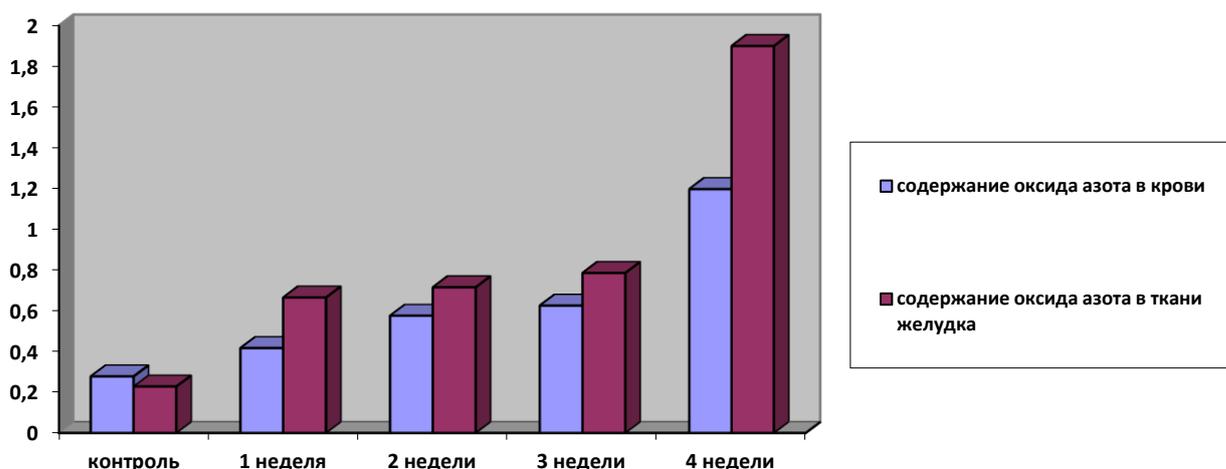


Рис. 2 Влияние длительного введения преднизолона на содержание оксида азота (мкг/мл) в крови и в тканях желудка у крыс.

В целом, полученные данные отражают тот факт, что высокие дозы преднизолона оказывают токсическое воздействие на организм, снижая устойчивость к язвообразованию и развитию язвенного кровотечения. Одним из механизмов ульцерогенного влияния препарата являются его стимулирующие эффекты на систему генерации NO.

Заключение. Анализ полученных результатов позволяет сделать следующие выводы:

1. Воздействие острого стресса приводит к значительному снижению массы тела животных, тимуса и селезёнки, а также увеличению массы надпочечников.
2. Количество и размер язв желудка находятся в прямой зависимости от длительности воздействия острого стресса.
3. Развитие стресс-индуцированных язв желудка сопровождается постепенным увеличением концентрации NO в крови и тканях желудка, что может быть использовано в качестве прогностического критерия.