

АНАЛІЗ ЗМІН МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ СЛИЗОВОЇ ТА ПІДСЛИЗОВОЇ ОБОЛОНОК ШЛУНКА ТА ЇХ ЗВ'ЯЗОК З УЛЬЦЕРОГЕНЕЗОМ ЗА УМОВ ГОСТРОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ З РІЗНИМИ ТИПАМИ РЕАГУВАННЯ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

Дана робота є фрагментом НДР «Роль біорегуляторів у механізмі розвитку патологічних змін органів системи травлення», № держ. реєстрації 0109U007982.

Вступ. Традиційно психоемоційний стрес оцінюють як одну з головних ланок патогенезу захворювань різних органів, але система травлення характеризується підвищеною чутливістю до дії психоемоційних факторів на організм [9].

Накопичено чимало інформації відносно ролі стресу як фактора ризику, що відіграє провідну роль у розвитку структурних та метаболічних змін органів травлення. Частота стресу як фактора ризику виразкової хвороби дванадцятипалої кишки складає 95,6%, тоді як інші фактори відіграють значно меншу роль, а саме: інфікування *Helicobacter pylori* (HP) – 66,3%, незбалансованість та порушення харчового режиму – 53,2% [5]. Підкреслюється роль психоемоційних розладів та генетичної схильності в розвитку виразкових уражень шлунка поряд з персистенцією HP, яка, як відомо, широко розповсюджена в світі (до 60% населення земної кулі інфіковано HP), але в більшості випадків не викликає розвитку виразкової хвороби (не більше 12-16%) [3].

Згідно сучасної концепції, виразкове ураження гастродуоденальної зони – це типовий приклад психосоматичного захворювання, клінічний прояв так званої «стресової дезадаптації» [2, 12].

Виразки шлунка при гострому стресі вважають наслідком ішемічних «лінійних інфарктів» слизової оболонки і вони є одним із компонентів «тріади» Г. Сельє, що використовується в якості критерію тяжкості стресу та резистентності організму до стресорних впливів [7, 11].

Але, незважаючи на великий потік інформації стосовно впливу стресорних чинників на ульцерогенез шлунка, недостатньо вивченим залишається питання про участь порушень гемоциркуляції в його патогенезі.

Для розкриття ролі судинного фактора у механізмі розвитку стресорних виразок шлунка ми досліджували стан мікроциркуляторного русла у слизовій та підслизовій оболонках шлунка залежно від типу реагування організму на стресорні чинники. Шлунок відзначається високою чутливістю до стресорних впливів, що може бути обумовлено органоспецифічними функціями слизової оболонки шлунка (СОШ),

пов'язаними з високим рівнем кровопостачання та енерговитрат.

Накопичено чимало фактів про роль генетичної схильності до стресорних виразок, що обумовлює неоднакову резистентність до утворення виразок СОШ у тварин різних генетичних ліній. Рядом досліджень обґрунтована роль типологічних особливостей організму у розвитку стресорних виразок шлунка [2, 8].

Метою даного дослідження було вивчення змін мікроциркуляції слизової та підслизової оболонки шлунка та їх зв'язок з ульцерогенезом за умов гострого стресу у щурів з різними типами реагування.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти виконані на 68 статевозрілих щурах-самцях Вістар масою 180-220 г. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Гострий емоційний стрес моделювали за методом Г. Сельє [7]. Типологічні особливості тварин визначали у нейроетологічному тесті «відкрите поле» з використанням факторно-аналітичного методу [4]. Щурів розподіляли на дві групи: стресостійкі (середня та мала рухливість і дослідницька активність, висока швидкість адаптації та низький рівень тривоги) та стресонестійкі (висока рухливість та дослідницька активність, мала швидкість адаптації в поєднанні з підвищеною тривожністю) (**табл. 1**).

Евтаназію тварин здійснювали шляхом кровопускання під гексеналовим наркозом (50 мг/кг) через 2 години після завершення стресорного впливу. Виразкоутворення СОШ визначали на підставі частоти (число тварин з наявністю виразок), множинності (кількість виразок на 1 тварину) та площі виразок шлунка [6]. Матеріалом для морфологічного дослідження слугували фрагменти стінки шлунка тварин, які фіксували у 10% водному розчині нейтрального формаліну. Серійні зрізи товщиною 4-5х10⁻⁶м фарбували гематоксиліном та еозинном. Морфо- та стереометричну оцінку проводили методом «полів» [1]. Морфометричне дослідження включало кількісну оцінку судин мікроциркуляторного

Таблиця 1

Показники тесту «відкрите поле» у щурів з різним типом реагування ($M \pm m$)

Показники тесту «відкрите поле»	Тип реагування		P
	Стресостійкий (n=34)	Стресонестійкий (n=34)	
Кількість виходів у центр	0,12±0,04	1,95±0,52	<0,01
Горизонтальна активність	28,42±3,24	102,52±10,18	<0,001
Кількість стійок	1,86±0,54	9,44±0,76	<0,001
Час перебування в центрі майданчика (з початку тестування), сек.	0,87±0,09	3,08±0,93	<0,05
Латентний період першого переміщення, сек.	0,48±0,11	0,96±0,18	<0,05
Тривалість вмивань, сек.	4,3±0,82	21,07±3,71	<0,001
Показники вегетативного балансу (болюси та уринації)	0,2±0,05	4,25±0,65	<0,001

Таблиця 2

Морфометричні показники мікроциркуляторного русла слизової оболонки шлунка стресостійких та стресонестійких щурів, ($M \pm m$)

Параметри Групи щурів	Кількість судин на одиницю площі		Діаметр судин		Об'єм строми	Об'єм судин	Індекс строма/судини
	Венули	Капіляри	Венули	Капіляри			
Стресостійкі (контроль) n = 9	5,85 ±0,27	18,05 ±0,31	15,59 ±0,44	8,73 ±0,17	13,15 ±1,53	23,85 ±0,59	0,55
Стресостійкі (гострий стрес) n = 9	4,55* ±0,23	14,6* ±0,43	12,13* ±0,64	7,85* ±0,30	18,7 ±0,79	19,15 ±0,55	0,98
Стресонестійкі (контроль) n = 9	5,09 ±0,35	17,86 ±0,49	22,15 ±0,57	11,52 ±0,29	17,75 ±0,91	22,95 ±0,56	0,77
Стресонестійкі (гострий стрес) n = 9	5,15 ±0,30	11,9* ±0,33	8,92* ±0,25	5,50* ±0,27	20,65 ±0,97	17,05 ±0,51	1,21

Примітка: *достовірна різниця між дослідною і контрольною групами відповідного типу реагування ($p < 0,05$).

русла в обмеженому полі зору та середній діаметр судин (артеріол, капілярів та венул) в слизовій та підслизовій оболонках шлунка. Для визначення співвідношення між строною та судинами в досліджуваних групах визначали середній відносний об'єм строми та стромально-судинний коефіцієнт для кожної з оболонок шлунка. Отримані результати піддавали математико-статистичному аналізу з використанням критерію t Ст'юдента та з метою визначення зв'язку між двома показниками в межах однієї вибірки застосований коефіцієнт парної кореляції Пірсона (r).

Результати досліджень та їх обговорення.

Гострий емоційний стрес викликає розвиток виразок шлунка у 100% тварин стресонестійкого типу, при цьому множинність виразок дорівнювала $3,66 \pm 0,4$, а площа виразок – $9,33 \pm 1,72$ мм². За цих умов показники ушкодження СОШ в групі стресостійких щурів були значно меншими порівняно з групою щурів стресонестійкого типу (67% , $1,77 \pm 0,32$ та $2,66 \pm 0,58$ мм² відповідно; $p < 0,05$). В контрольних групах тварин патологічних змін СОШ не спостерігали.

При морфометричному дослідженні мікроциркуляторного русла СОШ у щурів стресостійкого та стресонестійкого типів при гострому стресі спостерігали достовірне зменшення кількості капілярів і венул на одиницю площі, а також їх діаметру та

об'єму порівняно з контролем (табл. 2). Відповідно при гострому стресі достовірно збільшилось в 1,6-1,8 разів співвідношення «об'єм строми/об'єм судин» СОШ. Ознаки локальної ішемії СОШ при гострому стресі у щурів стресостійкого типу були значно меншими порівняно з тваринами стресонестійкого типу. Кількість капілярів на одиницю площі в групі стресостійких тварин зменшилась в 1,2 разів, а у тварин стресонестійкого типу – в 1,5 разів порівняно з відповідними типами контрольних груп.

Діаметр капілярів СОШ у стресонестійких тварин під впливом стресу вірогідно зменшився в 2,1 разів, венул – в 2,5 разів, тоді як в групі тварин стресостійкого типу за цих умов лише в 1,1 та в 1,3 рази відповідно. Отже, гострий стрес обмежує кровопостачання СОШ, яке, за даними літератури, становить 75% від загального кровотоку шлунка [10].

Більш виражені зміни гемоциркуляції залежно від стресостійкості тварин спостерігалися в підслизовому шарі порівняно із слизовим шаром шлунка (табл. 3).

При гострому стресі на тлі достовірного зменшення кількості артеріол і венул на одиницю площі, їх діаметру та об'єму у тварин стресостійкого типу спостерігалось збільшення в 1,7 рази індексу «об'єм строми/об'єм судин» підслизової оболонки шлунка, а у щурів стресонестійкого типу – в 3,2 рази порівняно з контролем.

Таблиця 3

Морфометричні показники мікроциркуляторного русла підслизової оболонки шлунка стресостійких та стресонестійких щурів, (M ± m)

Параметри Групи щурів	Кількість судин на одиницю площі			Діаметр судин			Об'єм стромы	Об'єм судин	Індекс строма/судини
	Артеріоли	Венули	Капіляри	Артеріоли	Венули	Капіляри			
Стресостійкі (контроль) n = 9	12,20 ± 0,38	24,05 ± 0,40	13,10 ± 0,36	45,22 ± 0,39	17,54 ± 0,31	8,15 ± 0,32	50,65 ± 0,94	49,35 ± 0,94	1,03
Стресостійкі (гострий стрес) n = 9	9,00* ± 0,53	22,05* ± 0,48	12,85 ± 0,45	41,05* ± 0,44	15,09* ± 0,41	7,86 ± 0,18	64,40 ± 0,51	35,60 ± 0,51	1,80
Стресонестійкі (контроль) n = 9	9,45 ± 0,35	17,80 ± 0,38	8,35 ± 0,27	44,47 ± 0,59	21,40 ± 0,49	11,74 ± 0,23	56,10 ± 0,48	43,90 ± 0,48	1,28
Стресонестійкі (гострий стрес) n = 9	4,60* ± 0,30	9,55* ± 0,40	5,25* ± 0,36	22,64* ± 0,29	11,16* ± 0,35	6,60* ± 0,18	80,60 ± 0,69	19,40 ± 0,69	4,15

Примітка: *достовірна різниця між контрольною і дослідною групами відповідного типу реагування ($p < 0,05$).

За цих умов в підслизовому шарі шлунка кількість артеріол на одиницю площі та їх діаметр у щурів стресостійкого типу вірогідно зменшився в 1,3 та 1,1 рази, а у тварин стресонестійкого типу – в 2,1 та 2 рази відповідно порівняно з контролем. У тварин стресостійкого типу спостерігалось вірогідне зменшення в 1,1 та 1,2 разів кількості та діаметру венул відповідно, тоді як у тварин стресонестійкого типу – в 1,9 разів (обох показників) порівняно з контролем.

За умов моделювання гострого стресу спостерігався тісний зворотній кореляційний зв'язок між зменшенням діаметру та кількістю судин мікроциркуляторного русла слизової та підслизової оболонки шлунка та показниками ульцерогенезу: діаметр венул і капілярів СОШ з множинністю виразок ($r = -0,6$, $p < 0,01$; $r = -0,50$, $p < 0,04$, відповідно) та площею виразок ($r = -0,61$, $p < 0,009$; $r = -0,55$, $p < 0,02$, відповідно), кількість капілярів СОШ – з множинністю та площею виразок ($r = -0,64$, $p < 0,005$; $r = -0,61$, $p < 0,009$, відповідно), діаметр капілярів, венул і артеріол підслизового шару шлунка з множинністю виразок ($r = -0,58$, $p < 0,01$; $r = -0,71$, $p < 0,001$; $r = -0,69$, $p < 0,002$, відповідно) та площею виразок ($r = -0,59$, $p < 0,01$; $r = -0,74$, $p < 0,001$; $r = -0,65$, $p < 0,005$, відповідно); кількості капілярів, венул і артеріол підслизового шару шлунка – з множинністю виразок ($r = -0,65$, $p < 0,004$; $r = -0,65$, $p < 0,005$; $r = -0,56$, $p < 0,02$, відповідно) та площею виразок ($r = -0,56$, $p < 0,02$; $r = -0,65$, $p < 0,005$; $r = -0,62$, $p < 0,007$, відповідно).

Про зниження кровопостачання СОШ за умов гострого стресу свідчить також зростання індексу «строма/судини» в слизовій оболонці та підслизовому шарі шлунка. При цьому більший ступінь редукції кровотоку слизової оболонки та підслизового

шару шлунка спостерігався у щурів стресонестійкого типу порівняно зі щурами стресостійкої групи (табл. 1, 2).

При порівнянні змін в слизовому і підслизовому шарі видно, що локальні порушення кровообігу більш виражені у підслизовому шарі. Саме останній забезпечує розподіл кровотоку, зокрема в структурах, що секретують муцин та впливають на захисну функцію СОШ.

Отже, за умов гострого стресу спостерігається тісний кореляційний зв'язок між ступенем зниження кровотоку в мікроциркуляторному руслі слизового та підслизового шарів шлунка щурів та показниками ульцерогенезу. Це дозволяє стверджувати, що саме зниження кровопостачання слизового та підслизового шарів шлунка, тобто розвиток ішемії в СОШ відіграє одну із визначальних ролей в реалізації ульцерогенного ефекту гострого стресу.

Висновки.

1. Ульцерогенний вплив гострого стресу у щурів стресонестійкого типу більш виражений порівняно з стресостійким типом.

2. Паралелізм тяжкості стресорних виразок та гемоциркуляторних змін слизової оболонки шлунка, залежно від типу реагування тварин на гострий стрес, переконливо обґрунтовує роль ішемії в генезі стресорних виразок шлунка та їх взаємозв'язок зі стресостійкістю організму.

Перспективи подальших досліджень. Обґрунтована ініціальна роль ішемії у виникненні стресорних виразок шлунка, є підставою для подальшого пошуку засобів корекції кровопостачання шлунка з метою лікування та профілактики стресорних виразок в клінічній гастроентерології.

Література

1. Автандилов Г. Г. Компьютерная микротелефотометрия в диагностической гистопатологии / Автандилов Г. Г. – М. : 1996. – 133 с.
2. Бачериков Н. Е. Эмоциональный стресс в этиологии и патогенезе психических и психосоматических заболеваний / Н. Е. Бачериков, М. П. Воронцов, П. Г. Петрюк, А. Я. Цыганенко. – Харьков : Основа, 1995. – 276 с.
3. Бойко В. В. Стрессовое повреждение слизистой желудочно-кишечного тракта / В. В. Бойко, О. М. Клигуленко, А. А. Павлов. – Харків : Т. О. Ексклюзив, 2010. – 182 с.

4. Майоров О. Ю. Нейродинамическая структура системных механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу : автореф. дис. на соискание ученой степени доктора мед. наук : спец. 14.00.17 «Нормальная физиология» / О. Ю. Майоров. – Москва, 1988. – 45 с.
5. Новикова И. А. Основные факторы риска развития психосоматических заболеваний / И. А. Новикова, П. И. Сидоров, А. Г. Соловьев // Тер. архив. – 2007. – № 1. – С. 61-64.
6. Пшенникова М. Г. Адаптация к стрессорным воздействиям повышает устойчивость к повреждениям желудка при остром стрессе у крыс популяции Вистар и снижает устойчивость у крыс линии Август: роль серотонина / М. Г. Пшенникова, Е. В. Попкова, М. В. Шимкович // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – №10. – С. 383-386.
7. Селье Г. Очерки об адапционном синдроме / Г. Селье. – М. : Медицина, 1960. – 254 с.
8. Судаков К. В. Индивидуальность эмоционального стресса / К. В. Судаков // Журнал неврологии и психиатрии – 2005. – Т. 105, №2. – С. 4-13.
9. Тяжка О. В. Стан адапційних реакцій у дітей із гастродуоденальною патологією / О. В. Тяжка, Н. В. Подгорна, Л. В. Бондаренко // Педіатрія, акушерство і гінекологія. – 2008. – № 1. – С. 20-24.
10. Успенский В. М. Функциональная морфология слизистой оболочки желудка / Успенский В. М. – Л. : Наука. 1986. – 291 с.
11. Desiderato O. Development of gastric ulcers in rats following stress termination / O. Desiderato, J. MacKinnon, H. Hissom // J. Comp. Physiol. Psychol. – 1974. – Vol. 87. – P. 208-214.
12. Kohler T. The role of event stress in the pathogenesis of duodenal ulcer / T. Kohler, K. Kuhnt, R. Richter // Stress Med. – 1998. – Vol. 14 (2). – P. 121-124.

УДК 616.33-092.9:613.86

АНАЛІЗ ЗМІН МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ СЛИЗОВОЇ ТА ПІДСЛИЗОВОЇ ОБОЛОНОК ШЛУНКА ТА ЇХ ЗВ'ЯЗОК З УЛЬЦЕРОГЕНЕЗОМ ЗА УМОВ ГОСТРОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ З РІЗНИМИ ТИПАМИ РЕАГУВАННЯ

Омельченко О. Є.

Резюме. Досліджено стан кровотоку в слизовій та підслизовій оболонках шлунка щурів з різним типом реагування за умов гострого стресу. Доведено наявність тісного кореляційного зв'язку між гемоциркуляторними змінами слизової оболонки шлунка та тяжкістю стресорних виразок, що переконливо обґрунтовує роль ішемії в генезі стресорних виразок шлунка та їх взаємозв'язок зі стресостійкістю організму.

Ключові слова: гострий стрес, виразки шлунка, гемоциркуляція, слизова оболонка шлунка, стресостійкість.

УДК 616.33-092.9:613.86

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ СЛИЗИСТОЙ И ПОДСЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧЕК ЖЕЛУДКА И ИХ СВЯЗЬ С УЛЬЦЕРОГЕНЕЗОМ ПРИ ОСТРОМ СТРЕССЕ У КРЫС С РАЗНЫМ ТИПОМ РЕАГИРОВАНИЯ

Омельченко А. Е.

Резюме. Исследовано состояние кровотока в слизистой и подслизистой слое желудка крыс с разным типом реагирования в условиях острого стресса. Доказано наличие тесной корреляционной связи между гемоциркуляторными изменениями в слизистой оболочке желудка и тяжестью стрессорных язв, что убедительно обосновывает роль ишемии в генезе стрессорных язв желудка и их взаимосвязь со стрессоустойчивостью организма.

Ключевые слова: острый стресс, язвы желудка, гемоциркуляция, слизистая оболочка желудка, стрессоустойчивость.

UDC 616.33-092.9:613.86

Analysis of Changes of Microcirculation in Gastric Mucosa and Submucosa and their Relationship with Ulcerogenesis at Acute Stress in Rats of Different Reaction Types

Omelchenko O. Y.

Summary. Despite a plethora of information on effects of stressors on the gastric ulcerogenesis there is still a lack of knowledge about participation of hemocirculatory infringements in its pathogenesis.

To illuminate the role of the vascular factor in the mechanism of development of stress-induced gastric ulcers we investigated properties of the microcirculatory bed. It included an estimation of the number of blood vessels in the limited field of sight as well as an estimation of an average diameter of the vessels (arterioles, capillaries and venules) in the gastric mucosa and submucosa depending on the type of the organism's reaction to stressors.

We determined typological characteristics of the rats in a neuroethological test "open field". According to the test results we divided the rats between a stress-resistant group and a stress-predisposed group.

It was found that acute stress causes a development of gastric ulcers in 100 % of the stress-predisposed rats, while the multiplicity of the ulcers was $3,66 \pm 0,4$, and the area of the ulcers was $9,33 \pm 1,72 \text{ mm}^2$. At the same conditions the indices of the impairment of the gastric mucosa in the group of the stress-resistant rats were much smaller compared to the stress-predisposed rats (67 %, $1,77 \pm 0,32$ and $2,66 \pm 0,58 \text{ mm}^2$ respectively; $p < 0,05$). We did not observe pathological lesions in the control groups of animals.

We performed a morphometric examination of the gastric mucosa and submucosa of the stress-resistant and stress-predisposed rats at acute stress. We observed a significant decrease of the number of all blood vessels per a unit of area as well as a decrease of their diameter and volume compared to the controls. The increased index "stroma/vessels" in the gastric mucosa and submucosa suggests a decrease of blood supply to the gastric mucosa at acute stress. We observed a more pronounced reduction of the blood circulation in the stress-predisposed rats compared to the stress-resistant rats.

We performed a correlation analysis using the Pearson correlation coefficient (r). We found that the decrease of the diameter and number of the blood vessels of the microcirculatory bed of the gastric mucosa and submucosa correlated negatively with the indices of ulcerogenesis. The diameters of the venules and capillaries of the gastric mucosa correlated with the multiplicity of the ulcers ($r = -0,6$, $p < 0,01$; $r = -0,50$, $p < 0,04$, respectively) and the area of the ulcers ($r = -0,61$, $p < 0,009$; $r = -0,55$, $p < 0,02$, respectively). The number of the capillaries of the gastric mucosa correlated with the multiplicity and the area of the ulcers ($r = -0,64$, $p < 0,005$; $r = -0,61$, $p < 0,009$, respectively). The diameters of the capillaries, venules and arterioles of the gastric submucosa correlated with the multiplicity of the ulcers ($r = -0,58$, $p < 0,01$; $r = -0,71$, $p < 0,001$; $r = -0,69$, $p < 0,002$, respectively) and the area of the ulcers ($r = -0,59$, $p < 0,01$; $r = -0,74$, $p < 0,001$; $r = -0,65$, $p < 0,005$, respectively). The numbers of the capillaries, venules and arterioles of the gastric submucosa correlated with the multiplicity of the ulcers ($r = -0,65$, $p < 0,004$; $r = -0,65$, $p < 0,005$; $r = -0,56$, $p < 0,02$, respectively) and the area of the ulcers ($r = -0,56$, $p < 0,02$; $r = -0,65$, $p < 0,005$; $r = -0,62$, $p < 0,007$, respectively).

Therefore, we observed a marked correlative relationship of the decrease of the blood circulation in the microcirculatory bed of the gastric mucosa and submucosa and the indices of ulcerogenesis at acute stress. The parallelism of the severity of the stress-induced ulceration and the hemocirculatory alterations of the gastric mucosa depending on the type of animals' reaction to acute stress emphasizes the role of ischemic disorders in the genesis of stress-induced gastric ulcers and their relation to stress resistance of the organism.

Key words: acute stress, gastric ulcers, hemocirculation, gastric mucosa, stress resistance.

Рецензент – проф. Непорада К. С.

Стаття надійшла 29.07.2013 р.