28.91
Б-48

ЛЬВОВСКИЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

БЕРГТРАУМ
Дзвенислава Ивановна

УДК 612.3:612.34:612.015.018:612.033.156

ВЛИЯНИЕ ГИДРОКОРТИЗОНА НА СЕКРЕЦИЮ ФЕРМЕНТОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

14.00.17 — нормальная физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Львов — 1990

Работа выполнена на кафедре физиологии человека и животных Львовского государственного университета им. И. Франко.

Научный руководитель — доктор медицинских наук, профессор ШОСТАКОВСКАЯ И. В.

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор НАЛИВАЙКО Д. Г., доктор медицинских наук, профессор ЯРЕМКО Е. О.

Ведущая организация — Научно-исследовательский институт физиологии Киевского государственного университета им. Т. Г. Шевченко.

Защита диссертации состоится «_____» _____ 1990 г. в _____часов, в аудитории №_____на заседании специализированного совета К 088.21.02 по присуждению ученой степени кандидата биологических наук во Львовском ордена Дружбы народов государственном медицинском институте (290010, г. Львов, ул. Пекарская, 69).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Львовского ордена Дружбы народов государственного медицинского института.

Автореферат разослан «_____»_____1990 г.

Ученый секретарь специализированного совета *А. Д. ЛУЦИК*

БІБЛІОТЕКА
Львівського державного
інституту фізичної
культури

Читальна зала
ЛДІФК - 1

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Многочисленные клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что на внешнесекреторную деятельность поджелудочной железы оказывает влияние содержание кортикостероидов в организме (Г.Г.Назарова, Л.С.Фомина, 1970; У.З.Кадыров и др., 1971; В.А.Добрых, 1974; Л.И.Геллер и др., 1977; В.Д. Сокур и др., 1978; Л.А.Можейко, 1983; D.A.Dreiling e.a. , 1977; M.X.Grossman e.a. , 1984). Однако, имеющиеся по этому поводу в литературе сведения весьма противоречивы. Согласно данных Г.Г.Назаровой, Л.С.Фоминой (1970), Д.А.Дрейлинг и др. (D.A.Dreiling e.a., 1977) введение гидрокортизона сопровождается снижением секреции большинства ферментов поджелудочной железы. По другим сведениям, секреция не изменяется (В.А.Добрых, 1974) или же усиливается (Л.И.Геллер и др., 1977). Мнения о действии глюкокортикостероидов на секрецию поджелудочной железы настолько различные, что одни авторы рекомендуют лечебное использование преднизолона и его аналогов при остром панкреатите, а другие предостерегают об опасности развития "стероидного" панкреатита в случае применения этих препаратов (В.А.Ковган, 1971; Н.В.Лукаш, 1972). Остается невыясненным вопрос влияют ли кортикостероиды на ацинарные клетки непосредственно или это влияние имеет опосредованный характер через те нервные механизмы, которые контролируют их секреторную функцию. Известно, что стимуляция парасимпатической нервной системы приводит к повышению секреции панкреатического сока и ферментовыделения (И.П.Разенков, 1948; И.П.Павлов, 1951; А.В.Соловьев, В.Б.Троицкая, 1960; И.В.Шостаковская, 1968; S.J.Konturek e.a., 1972; F.P.Brooks e.a., 1973). Однако есть данные, что ваготомия существенно не изменяет панкреатической секреции или даже увеличивает ее (Н.И.Путилин, В.Б.Троицкая, 1974; A.A.Harper , 1972). Что касается роли симпатической нервной системы и ее медиаторов в регуляции панкреатической секреции, то в литературе также нет единого мнения. А вопрос как изменяется направленность изменений медиаторных веществ в поджелудочной железе под влиянием гидрокортизона до настоящего времени остается открытым. Кроме того, не изучено участие адренергической и холинергической систем в реализации влияния гидрокортизона на ферментообразовательную и ферментовыделительную деятельность поджелудочной железы. Исследование этих вопросов представляет определенный теоретический и практический интерес, так как раскрывает механизм влияния гидрокортизона на секреторный процесс поджелудочной железы.

А956

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы состояла в выяснении механизма действия гидрокортизона на ферментообразовательную и ферментовыделительную деятельность поджелудочной железы крыс. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- исследовать влияние одноразового и многократного введения гидрокортизона в дозе 5 мг на 100 г массы животного на протеолитическую, амилолитическую и липолитическую активность ткани поджелудочной железы и содержимого тонкой кишки крыс через 10 мин, 1, 2, 6, 24, 72 часа и на 7-й день опыта;
- выяснить влияние разных доз гидрокортизона на ферментативную активность ткани поджелудочной железы и содержимого тонкой кишки;
- изучить влияние гидрокортизона на амилолитическую и липолитическую активность сыворотки крови крыс, как ценного диагностического теста оценки внешнесекреторной функции поджелудочной железы;
- для выяснения прямого действия гидрокортизона изучить закономерность экструзии основных панкреатических ферментов в опытах in vitro в зависимости от дозы и времени действия;
- проанализировать влияние одноразового и многократного введения гормона на содержание медиаторных веществ и холинэстеразной активности ткани поджелудочной железы крыс;
- определить значение α- и β-адренорецепторов и М-холинорецепторов в реализации влияния гидрокортизона на ферментативную активность ткани поджелудочной железы и содержимого тонкой кишки.

Научная новизна. Исследовано параллельно изменения активности основных пищеварительных ферментов панкреатического сока в динамике под влиянием одноразового и многократного введения гидрокортизона. Показано, что гормон в первые минуты своего действия снижает как образование, так и выделение основных панкреатических ферментов. Отмечено также длительное увеличение активности протеаз ткани поджелудочной железы. Выявлена дозовая зависимость влияния гидрокортизона на активность исследуемых ферментов в ткани и их экструзию. Обнаружено, что под влиянием гормона отсутствует параллелизм в изменениях экструзии панкреатических ферментов. Изучена возможность использования инкубированных фрагментов ткани поджелудочной железы крыс для исследования экструзии панкреатических ферментов в условиях in vitro и проверена их способность реагировать на разные дозы гидрокортизона. Показано, что in vitro гидрокортизон стимулирует экструзию панкреатических ферментов, уровень которой зависит от доз и времени действия гормона. Установлено, что гидрокортизон в условиях in vivo вызывает значительное накопление в ткани

поджелудочной железы норадреналина и уменьшение ацетилхолина, что может влиять на внешнесекреторную функцию поджелудочной железы. Обнаружено, что в организме влияние гидрокортизона на ферментообразовательную и ферментовыделительную функции поджелудочной железы опосредовано через адренергические и частично холинергические механизмы регуляции.

Научно-практическая ценность. Значительно расширены существующие представления о влиянии гидрокортизона на ферментообразовательную и ферментовыделительную функции поджелудочной железы. Доказано, что в механизме реализации эффекта гидрокортизона в отношении внешнесекреторной функции поджелудочной железы участвуют α - и β-адренорецепторы и М-холинорецепторы. Полученные данные об участии β-адренорецепторов в реализации влияния гидрокортизона представляют интерес для клиницистов и должны учитываться в клинике в процессе применения глюкокортикоидов, а также для разработки методов лечения патологических состояний поджелудочной железы.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались на XIУ Всесоюзной конференции по физиологии пищеварения и всасывания (г.Тернополь, 1986), на XП съезде Украинского физиологического общества им. И.П.Павлова (г.Львов, 1986), XШ съезде Украинского физиологического общества им. И.П.Павлова (г.Харьков, 1990 г.), на ежегодных научных конференциях Львовского госуниверситета им. И.Франко (1983-1990 г.г.).

Публикации. Результаты исследований по теме диссертации отражены в 7 печатных работах.

Внедрение результатов исследований. Результаты исследований внедрены в учебный процесс при чтении лекционных курсов "Физиология человека и животных", "Нормальная физиология" и спецкурсов на кафедре физиологии человека и животных Львовского госуниверситета им. И.Франко и на кафедре нормальной физиологии Львовского медицинского института.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 159 страницах машинописи и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, 6 глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 23 рисунками. Список литературы содержит 284 источника литературы, из них 162 отечественных и 122 иностранных авторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эксперименты проводили на белых лабораторных крысах массой 180-200 г, голодавших перед опытом в течении 22-24 ч при свободном доступе к воде. Гидрокортизон-ацетат фирмы "Рихтер" (ВНР) вводили внутримышечно в дозах 5 и 25 мг на 100 г массы животного. После однократного введения гормона животных декапитировали через 10 мин, 1, 2, 6, 24, 72 ч, 7 дней и определяли амилолитическую (А.М.Уголев, 1969), протеолитическую (А.М.Уголев, Н.М.Тимофеева, 1969) и липолитическую (М.С.Рожкова, 1937) активность в гомогенате ткани поджелудочной железы и содержимом тонкой кишки. Контрольным животным вводили такой же объем физиологического раствора. Параллельно исследовали влияние гидрокортизона в дозе 5 мг на 100 г массы животного на амилолитическую и липолитическую активность сыворотки крови. Эффект многократного введения гидрокортизона на активность исследуемых ферментов определяли по влиянию гормона в дозе 5 мг на 100 г массы животного на протяжении 6 дней. Определение проводилось на 15-й и 21-й дни опыта.

Для изучения возможности непосредственного влияния гидрокортизона на ацинарные клетки в условиях in vitro , в инкубационную среду -раствор Кребса при температуре 37°С, с фрагментами поджелудочной железы, добавляли гидрокортизон в дозе 0,1 мг и 2,5 мг на 100 мг ткани и определяли амилотитическую, протеолитическую и липолитическую активность на протяжении 10 мин, 1 и 2 часов инкубации.

Содержание медиаторных веществ в ткани поджелудочной железы исследовали через 10 мин,1 и 2 часа после однократного введения гормона в дозе 5 мг/100 г массы животного и на 15-й и 21-й дни опыта после многократного (на протяжении 6 дней) введения гидрокортизона. Содержание ацетилхолина (АХ) в ткани железы определяли методом биологического тестирования на изолированной прямой мышце живота лягушки, концентрацию норадреналина (НА) и адреналина (А) - флюоресцентно-аналитическим методом (В.О.Осинская, 1957), холинэстеразную активность - биохимическим методом (S. Hestrin,1949). Контролем служила ткань поджелудочной железы голодных животных.

Для выяснения роли адрено- и холинорецепторного аппарата поджелудочной железы в механизме действия гидрокортизона на образование и выделение панкреатических ферментов производили блокаду α-адренорецепторов пирроксаном (1 мг/100 г массы животного), а выключение β-адренорецепторов вызывали обзиданом в такой же концентрации. Для выключения холинергических влияний вводили атропин-сульфат в количестве 0,5 мг на 100 г массы животного. Гидрокортизон

вводили в дозе 5 мг/100 г массы животного через 20 мин после введения вышеуказанных блокаторов. Контрольным животным вводили такой же объем физиологического раствора. Во всех случаях определяли активность амилазы, протеаз и липазы в гомогенате ткани поджелудочной железы и в содержимом тонкой кишки через 10 мин, 1 и 2 часа после введения гидрокортизона. Определение основных панкреатических ферментов производилось по вышеуказанным методикам. Полученные результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента. Для изучения степени сопряженности между отдельными исследуемыми показателями и направленности существующей между ними связи определяли коэффициент корреляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Влияние однократного введения разных доз гидрокортизона на внешнесекреторную деятельность поджелудочной железы

В ходе исследований показано, что амилолитическая активность гомогената ткани поджелудочной железы уже через 10 мин после введения гормона в дозе 5 мг на 100 г массы животного достоверно снижается на 41%. В последующие периоды исследования изменения носят фазный характер, выражаясь то увеличением (1 ч,, 24 ч, 7 дн.), то уменьшением активности амилазы (2 ч, 6 ч, 72 ч) по сравнению с контролем. Изменения амилолитической активности в содержимом тонкой кишки также носят фазный характер. В течении первых 10 мин она снижается почти в 2 раза, затем на протяжении 2-х часов после введения гормона остается ниже контрольного уровня. Через 6 часов она восстанавливается до уровня контрольных величин, а через 24 ч и 72ч снова уменьшается по сравнению с контрольными опытами. На 7 сутки амилолитическая активность возрастает на 56% выше контроля. Протеолитическая активность ткани поджелудочной железы также снижается через 10 мин после введения гидрокортизона и остается низкой на протяжении 1 часа. Через 2 часа исследования она возрастает и до 7 дня находится выше контрольного уровня. Особенно высокой была через 24 часа от начала опыта. В содержимом тонкой кишки активность протеаз в течении двух часов и через 24, 72 часа после введения гормона находится ниже контрольного уровня, что коррелирует с увеличением активности протеаз в ткани железы. Увеличение активности протеаз в содержимом тонкой кишки наблюдается лишь только через 6 часов на 39% и через 7 дней на 40%. Липолитическая активность ткани поджелудочной железы и содержимого тонкой кишки также была ниже контрольного уровня на протяжении 1 часа после введения гормона. В дальнейшие периоды исследования изменения носят фазный

характер, выражаясь то повышением липолитической активности ткани поджелудочной железы через 2, 24 часа, 7 дней, то уменьшением ее активности через 6 и 72 часа по сравнению с контролем. Изменения активности липазы в содержимом тонкой кишки также носят фазный характер и синхронно отображают изменения, которые происходят в ткани поджелудочной железы. Через 6 часов отмечали увеличение липолитической активности содержимого тонкой кишки за счет усиленного выделения фермента с панкреатическим соком в просвет тонкой кишки, а к 7 дню высокая липолитическая активность сока обеспечивается увеличением содержания этого фермента в ткани.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что гидрокортизон в малых дозах в первые минуты своего действия снижает как образование, так и выделение основных панкреатических ферментов ткани поджелудочной железы. Отмечено также дл. ельное (на протяжении недели) возрастание активности протеаз ткани поджелудочной железы. Что касается ферментовыделительных процессов, то полученные данные свидетельствуют о том, что гидрокортизон значительно снижает выделение всех исследуемых ферментов в содержимое тонкой кишки и лишь к 7 дню исследования активность исследуемых ферментов в кишечном соке значительно возрастает.

Введение более высоких доз гидрокортизона - 25 мг на 100 г массы животного - также вызывает в первые 10 мин снижение амилолитической активности как в ткани поджелудочной железы, так и в кишечном содержимом. Затем в течении 2-х часов амилолитическая активность ткани возрастает выше контрольного уровня, что коррелирует со снижением ее активности в кишечном содержимом, где она падает до 16% от контроля, что свидетельствует об угнетении секреции этого фермента. В дальнейшем изменение амилолитической активности ткани железы до 7 суток носит фазный характер и характеризуется на конец первых суток высокой амилолитической активностью ткани железы и резким падением ее в содержимом тонкого кишечника, что по-видимому отображает активацию образования этого фермента в железе на фоне угнетения его экструзии. В дальнейшем через 72 часа и 7 дней эти изменения имеют обратный характер. Протеолитическая активность как в ткани поджелудочной железы, так и в содержимом тонкой кишки через 10 мин после введения гормона возросла с последующим снижение через 1 час в ткани поджелудочной железы и дальнейшим возрастанием в содержимом тонкой кишки, что отображает увеличение образования фермента в ткани железы и затем его выделение в содержимое кишки. На протяжении всех последующих периодов исследования

(2, 6, 24 часа) протеолитическая активность ткани поджелудочной железы находится на высоком уровне, достигая через 6 часов почти 188%, в то время как в содержимом тонкой кишки в эти периоды исследования она находится ниже контрольного уровня. Полученные данные свидетельствуют о том, что гидрокортизон в больших дозах значительно увеличивает активность протеаз в ткани поджелудочной железы, по-видимому, за счет снижения их экструзии. Снижение протеолитической активности в ткани железы и в содержимом тонкой кишки свидетельствует об угнетении в это время образования протеаз в поджелудочной железе. На 7 сутки процессы ферментообразования и выделения протеаз значительно превышают контрольный уровень. Липолитическая активность ткани поджелудочной железы через 10 мин исследования после введения гормона снижается на 40% по сравнению с контрольным уровнем, а в содержимом тонкой кишки возросла на 50%. Через I час после инъекции гормона липолитическая активность ткани поджелудочной железы и содержимого тонкой кишки находится выше контрольного уровня, сменяясь резким снижением ее активности в последующие периоды исследования (2 ч, 6 ч, 24 ч) как в ткани поджелудочной железы, так и в содержимом тонкой кишки, что свидетельствует о снижении как образования липазы в ткани поджелудочной железы, так и о выделении ее в содержимое тонкой кишки. Через 72 часа происходит нормализация липолитической активности как в ткани железы, так и в содержимом тонкой кишки.

Таким образом, наши исследования показали, что введение гидрокортизона в малых дозах вызывает в первые минуты и часы угнетение образования и выделения всех трех групп ферментов панкреатического сока, а при пятикратном увеличении дозы гормона ингибирующий эффект наблюдается в отношении амилолитических и липолитических ферментов. Образование и экструзия протеолитических ферментов возрастает.

2. Влияние однократного введения гидрокортизона на ферментативную активность сыворотки крови

Медикаментозное лечение гидрокортизоном нередко вызывает "стероидный" панкреатит. Поэтому интересным представлялось изучить с диагностической и прогностической целью влияние гормона на активность амилазы и липазы сыворотки крови.

Поскольку гидрокортизон после введения вызывает снижение активности исследуемых ферментов в кишечном содержимом на протяжении почти всех периодов исследования, кроме 6 часов и 7 дня исследова-

ния, когда активность их превышает контрольный уровень, то предполагалось, что это может быть обусловлено некоторым "уклонением" ферментов в кровь. Однако в результате проведенных экспериментов установлено, что однократное введение гидрокортизона в дозе 5 мг на 100 г массы животного вызывает достоверное снижение активности амилазы и липазы в сыворотке крови на протяжении 2-х часов. Через 6 часов исследования активность амилазы сыворотки крови восстанавливается и даже превосходит исходный уровень, но в дальнейшем к 7 дню исследования ее активность вновь понижается. Активность липазы через 6 часов также восстанавливается и остается несколько выше контрольного уровня. В последующие периоды исследования она вновь существенно снижается, а затем увеличивается на 7 сутки на 20% по сравнению с контролем.

Таким образом, в результате проведенного анализа установлено параллелизм в изменениях активности амилазы и липазы, выражающийся в ее снижении как в кишечном содержимом, так и в сыворотке крови после введения гормона, что подтверждает существование прямой зависимости инкреции пищеварительных ферментов от секреторной активности поджелудочной железы. Повышение в это же время активности амилазы и липазы в ткани железы, по всей вероятности, обусловлено задержкой секрета в ткани железы и уменьшением выделения ферментов в кишечное содержимое и кровь. Падение концентрации амилазы и липазы в крови обусловлено, с одной стороны, затруднением проникновения их из поджелудочной железы и, с другой стороны, снижением содержания фермента в проксимальном отделе тонкой кишки.

3. Влияние многократного введения гидрокортизона на внешнесекреторную функцию поджелудочной железы

Целесообразным для клинической практики представлялось изучить влияние многократного введения гидрокортизона на панкреатическую секрецию. В результате проведенных экспериментов установлено, что ежедневное (в течение 6 дней) введение гидрокортизона в дозе 5 мг на 100 г массы животного вызывает на 15-й день исследования усиленное образование и выделение протеолитических и липолитических ферментов. При этом активность амилазы в ткани поджелудочной железы и в содержимом тонкой кишки оказалась ниже контрольного уровня. На 21-й день от начала опыта наблюдается резкое возрастание активности всех исследуемых ферментов в ткани поджелудочной железы и в содержимом тонкой кишки, что свидетельствует об усиленном образовании и выделении указанных ферментов, за исключением липазы кишечного содержимого, остававшейся в пределах нормы.

Таким образом, многократное введение гидрокортизона оказывает длительное влияние на внешнесекреторную деятельность поджелудочной железы. Сразу после окончания курса введения гидрокортизона угнетается образование и экструзия амилазы на фоне повышения протеолитической и липолитической активности в ткани поджелудочной железы и содержимом тонкой кишки.

4. Влияние гидрокортизона на экструзию основных пищеварительных ферментов поджелудочной железы в условиях in vitro

Исследуя влияние разных доз гидрокортизона на экструзию панкреатических ферментов в условиях in vitro , установлено, что по сравнению с контрольной пробой (без добавления гидрокортизона) амилолитическая, протеолитическая и липолитическая активность инкубата достоверно увеличивается (соответственно на 8I%, I9% и I82%) уже через I0 мин после добавления в среду гидрокортизона в дозе 0,I мг на I00 мг ткани поджелудочной железы. Через I ч инкубации активность ферментов в среде снижается и через 2 часа приближается к норме. Такие же изменения характерны для протеолитической и липолитической активности при добавлении гидрокортизона в инкубационную среду в дозе 2,5 мг на I00 мг ткани железы. Амилолитическая активность возрастает на 48% ($p < 0,0I$) через I час, а через 2 часа приближается к контрольному уровню.

Если сравнить изменения ферментативной активности в инкубате при действии разных доз гидрокортизона на ткань поджелудочной железы, то можно отметить, что через I0 мин инкубации с гормоном амилолитическая активность в инкубационной среде выше при действии гидрокортизона в дозе 0,I мг на I00 мг ткани. Эта зависимость - больший эффект на меньшую дозу - сохраняется для липолитической активности и в другие сроки исследования - через I и 2 часа. Протеолитические ферменты во все сроки исследования и амилаза через I час инкубации с гидрокортизоном имеют более высокую активность при действии гормона в дозе 2,5 мг на I00 мг ткани, чем при действии 0,I мг на I00 мг ткани. Через 2 часа инкубации с гидрокортизоном экструзия амилазы приближается к контрольному уровню и не зависит от дозы гормона.

Таким образом, полученные результаты в условиях in vitro подтверждает мнение, что гидрокортизон может действовать непосредственно на ацинарные клетки поджелудочной железы. Влияние гормона в дозах 0,I и 2,5 мг на I00 мг ткани на экструзию пищеварительных ферментов носит однонаправленный характер. Однако более

высокую чувствительность к действию гормона независимо от дозы проявляет экструзия липазы, затем амилазы и в меньшей степени протеазы поджелудочной железы. Поскольку полученные наши результаты в условиях in vivo и in vitro о влиянии гидрокортизона на активность панкреатических ферментов не совпадают, то напрашивается вывод, что хотя гидрокортизон может прямо воздействовать на ацинарные клетки, но в условиях in vivo, по-видимому, его влияние модифицируется за счет воздействия на вегетативную нервную систему.

5. Влияние гидрокортизона на содержание медиаторных веществ и холинэстеразную активность ткани поджелудочной железы

По данным ряда авторов гидрокортизон оказывает непосредственное влияние на адренергические и холинергические нейроны, изменяя функциональное состояние центральной нервной системы (Н.М.Малышенко, 1974), а также обмен катехоламинов (М.С.Расин, 1969; А.М.Утевский, 1972; В.Г.Шаляпина, 1976, 1979). Согласно электрофизиологических данных, полученных А.Д.Ноздрачевым (1969) гидрокортизон обладает ганглиозным действием, влияя на биохимические процессы, связанные с метаболизмом АХ.

Полученные нами результаты показывают, что однократное введение гидрокортизона вызывает изменения содержания медиаторных веществ и активности холинэстеразы в ткани поджелудочной железы уже через 10 мин после введения гормона. При этом отмечено снижение содержания АХ до 29%, что коррелирует с повышением активности ХЭ до 238% по отношению к контролю ($r = -0,60$). Через 1 ч после введения гидрокортизона содержание АХ продолжает оставаться на низком уровне (44%), а активность ХЭ на 86% превосходит контрольный уровень. Через 2 часа опыта содержание АХ еще оставалось на низком уровне и составляло 48% от контроля. Активность ХЭ продолжала падать, однако была еще на 61% выше по сравнению с контролем. Существенные изменения в ткани поджелудочной железы в разные периоды после действия гидрокортизона претерпевают фракции КА. Через 10 мин после введения гормона содержание НА, представляющего основную фракцию КА и являющегося адренергическим медиатором, увеличивается на 47% ($p < 0,001$). Через 1 ч исследования содержание НА еще больше возрастает и достигает 204%, а ко второму часу снижается до 150% от контрольного уровня. В то время, когда содержание НА во все периоды исследования было высоким, содержание

А в ткани железы определялось в пределах нормы.

После многократного введения гидрокортизона на протяжении 6 дней отмечено изменения в содержании АХ, КА и активности ХЭ как на I5-й так и на 2I-й день эксперимента. Нами отмечено, что содержание НА выше контрольного уровня на I5-й и 2I-й дни, соответственно, на I02 и I30%. Содержание А в эти периоды исследования находится в пределах нормы. Снижение содержания АХ в ткани поджелудочной железы на I5-й и 2I-й дни после введения гидрокортизона также коррелирует с увеличением содержания НА и А ($r = -0,45$; $r = -0,52$).

Таким образом, нами установлено, что однократное и многократное введение гидрокортизона вызывает значительное увеличение холинэстеразной активности ткани поджелудочной железы, при одновременном значительном снижении холинергического медиатора. Следует отметить и тот факт, что введение гидрокортизона вызывает значительное увеличение НА, указывающее на активацию симпатического звена симпато-адреналовой системы. Концентрация А на протяжении всего эксперимента находилась в пределах нормы. Увеличение содержания катехоламинов в ткани железы сразу после введения гормона указывает на непременное участие адренергических механизмов регуляции секреторного процесса поджелудочной железы в ответ на введение гидрокортизона.

6. Участие адрено- и холинорецепторов в реализации влияния гидрокортизона на секреторный процесс в поджелудочной железе крыс

Поскольку нами было установлено, что воздействие гидрокортизона вызывает в ткани поджелудочной железы изменения содержания АХ и НА, представляло интерес выяснить степень участия α- и β-адренорецепторов, а также М-холинорецепторов в реализации влияния гидрокортизона на секреторную деятельность поджелудочной железы. Изучая влияние введение гидрокортизона в дозе 5 мг на I00 г массы тела на ферментативную активность ткани поджелудочной железы и содержимого тонкой кишки установлено, что через I0 мин амилолитическая, протеолитическая и липолитическая активность ткани существенно снижается. Через I ч опыта протеолитическая и липолитическая активность остаются низкими, в то время как амилолитическая активность под воздействием гидрокортизона резко возрастает и достигает I40% по сравнению с контролем. Через 2 ч после введения гормона отмечено, что амилолитическая активность падает, а протеолитическая и липолитическая возрастает. Что касается изменений активности исследуемых ферментов в содержимом тонкой кишки, то уста-

новлено значительное снижение выделения всех исследуемых ферментов в первые 10 мин опыта. Амилолитическая активность остается ниже контрольного уровня на протяжении 1 ч исследования, а липолитическая - на протяжении 2 ч опыта. При этом протеолитическая активность через 1 ч опыта возрастает почти на 60% по сравнению с контролем и снижается ко 2-му часу исследования.

Предварительная блокада α-адренорецепторов пирроксаном за 20 мин до введения гидрокортизона вызывает в первые 10 мин опыта увеличение амилолитической и липолитической активности ткани поджелудочной железы на 102 и 110%, протеолитическая активность почти не изменилась по сравнению с введением самого гормона. При изучении изменений активности панкреатических ферментов в содержимом тонкой кишки установлено, что в этих условиях гидрокортизон не вызывает существенных изменений ферментовыделительных процессов в первые 10 мин опыта. В дальнейшие периоды исследования через 1 и 2 часа изменения активности исследуемых ферментов как в ткани поджелудочной железы, так и в содержимом тонкой кишки носят противоположный характер по сравнению с теми изменениями, которые вызывал сам гормон.

При введении гидрокортизона на фоне блокады бета-адренорецепторов обзиданом установлено через 10 мин опыта повышение в ткани поджелудочной железы амилолитической и протеолитической активности (соответственно на 102 и 53% по сравнению с введением одного гормона), т.е. эти изменения противоположны тем, которые вызывает сам гормон. Однако, предварительная блокада β-адренорецепторов не снимает ингибирующий эффект гидрокортизона на липолитическую активность гомогената поджелудочной железы. В последующие периоды исследования изменения амилолитической, протеолитической и липолитической активности имеют противоположный характер по сравнению с введением одного гормона, т.е. нами отмечено, что введение β-адреноблокаторов блокирует возможные пути реализации влияния гидрокортизона через β-адренорецепторы. В содержимом тонкой кишки на фоне предварительного выключения бета-адренорецепторов гидрокортизон вызывает неоднозначные изменения активности исследуемых ферментов на протяжении 2 ч опыта. В частности, в первые 10 мин опыта возрастает в два раза по сравнению с введением самого гормона активность амилазы, что свидетельствует об усилении выделения этого фермента на фоне высокой активности амилазы в гомогенате ткани поджелудочной железы. В дальнейшие периоды исследования активность амилазы снижается до 86% через 1 ч исследования и через 2 ч опыта достигает 63%. Активность протеаз в содержимом тонкой кишки на протяжении

всего эксперимента, а липазы на протяжении I ч находится на более низком уровне по сравнению с введением одного гормона.

Таким образом, нами установлено, что предварительное введение блокаторов α- и β-адренорецепторов за 20 мин до введения гидрокортизона практически полностью предотвращает эффекты вызванные самим гормоном. Анализируя изменения активности исследуемых ферментов в гомогенате ткани поджелудочной железы и в содержимом тонкой кишки, можно сделать вывод, что гидрокортизон реализует свое влияние на ферментообразовательную и ферментовыделительную функцию поджелудочной железы через α- и β-адренорецепторы, активируя адренергические механизмы регуляции.

Результаты, полученные нами в предыдущих сериях опытов свидетельствуют о том, что введение гидрокортизона оказывает влияние на активность парасимпатической нервной системы. В наших исследованиях введение гидрокортизона вызывало длительное снижение концентрации ее медиатора в ткани железы. В связи с этим представлялось интересным выяснить роль М-холинорецепторов в реализации влияния гидрокортизона на внешнесекреторную деятельность поджелудочной железы.

Нами было установлено, что введение гидрокортизона на фоне предварительной блокады М-холинорецепторов атропином вызывает неоднородные изменения активности исследуемых ферментов. Изменение активности амилазы в ткани поджелудочной железы на фоне блокады М-холинорецепторов через I0 мин опыта имеет обратную направленность чем при введении самого гормона, т.е. активность амилазы в гомогенате ткани поджелудочной железы возрастает, достигая I73%, в то время как введение самого гормона вызывает снижение активности амилазы в этот период исследования. Активность амилазы в содержимом тонкой кишки также отображает блокирующий эффект атропина на М-холинорецепторы в реализации влияния гидрокортизона. В результате полученных данных можно заключить, что под влиянием атропина снимается ингибирующий эффект гидрокортизона на выделение амилазы в содержимое тонкой кишки, поскольку во все периоды исследования нами отмечено повышенную амилолитическую активность в содержимом тонкой кишки. Сходный характер с изменениями активности амилазы имеют изменения липолитической активности как в ткани поджелудочной железы, так и в содержимом тонкой кишки. Совсем другая картина наблюдается в отношении протеолитических ферментов. Нами было установлено, что предварительная блокада М-холинорецепторов атропином вызывает незначительное повышение протеолитической активности в первые I0 мин опыта как в ткани поджелудочной железы, так и в со-

держимом тонкой кишки, что также свидетельствует о предполагаемом нами эффекте снятия атропином тормозного влияния гидрокортизона на ферментообразовательную и ферментовыделительную деятельность поджелудочной железы. В дальнейшие периоды эксперимента установлено достоверное снижение протеолитической активности как в гомогенате ткани поджелудочной железы, так и в содержимом тонкой кишки. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в механизме реализации действия гидрокортизона на ферментообразовательную и ферментовыделительную функцию поджелудочной железы важную роль играют холинергические и адренергические нейротрансмиттеры и соответствующие им рецепторы.

ВЫВОДЫ

1. Одноразовое введение в организм животных гидрокортизона вызывает длительные фазные изменения амилолитической, протеолитической и липолитической активности в ткани поджелудочной железы и содержимом проксимальных отделов тонкой кишки.

2. На уровень образования основных пищеварительных ферментов поджелудочной железы и их экструзию влияет концентрация гормона в организме:

а) гидрокортизон в дозе 5 мг на 100 г массы животного в первые минуты и часы своего действия снижает как образование, так и выделение основных панкреатических ферментов в двенадцатиперсную кишку. В более поздние периоды изменения активностей исследуемых ферментов носят фазный характер;

б) в дозе 25 мг на 100 г массы животного гормон оказывает также вначале ингибирующий эффект на образование и экструзию амилазы и липазы. Образование и экструзия протеолитических ферментов возрастает. В более отдаленные строки исследования гидрокортизон вызывает фазные колебания амилолитической активности в ткани поджелудочной железы и длительное снижение в содержимом тонкой кишки. Активность протеаз в ткани поджелудочной железы на протяжении 72 ч значительно превосходит контрольный уровень при одновременном резком снижении активности фермента в содержимом тонкой кишки. Активность липазы как в ткани поджелудочной железы, так и в содержимом тонкой кишки все это время была ниже контрольного уровня.

3. Секреция пищеварительных ферментов поджелудочной железой после введения гидрокортизона не всегда имеет параллельный характер.

4. При введении гидрокортизона установлено параллелизм и одно-

направленность в изменениях амилолитической и липолитической активности кишечного содержимого и сыворотки крови, что подтверждает существование прямой зависимости инкреции этих ферментов от их образования и экструзии.

5. Многократное введение гидрокортизона вызывает длительное увеличение активности исследуемых ферментов в ткани железы и в кишечном содержимом, что свидетельствует об усилении процесоов их образования и экструзии.

6. Гидрокортизон оказывает непосредственное влияние на ацинарные клетки в условиях in vitro . Эффект влияния гидрокортизона на экструзию пищеварительных ферментов инкубированной тканью поджелудочной железы зависит от дозы гормона и времени исследования и противоположный влиянию его на железу in vivo ;

а) на меньшую дозу гормона отмечено больший стимулирующий эффект на экструзию основных панкреатических ферментов, высокие дозы гидрокортизона вызывают менее выраженное стимулирующее воздействие;

б) более чувствительной к действию гормона независимо от дозы является липаза, затем амилаза и в меньшей степени протеазы поджелудочной железы.

7. Поскольку влияние гидрокортизона на экструзию панкреатических ферментов в условиях In vitro противоположно тому, которое наблюдалось в опытах in vivo , следовательно воздействие гидрокортизона на ацинарные клетки в условиях целостного организма модифицируется другими регуляторными механизмами.

8. Однократное и многократное введение гидрокортизона в дозе 5 мг/100 г массы животного изменяет в ткани поджелудочной железы соотношение между холинергическими и адренергическими медиаторами в течении всего периода исследования, в частности достоверно снижает содержание ацетилхолина, а норадреналина повышает. Концентрация адреналина существенным изменениям не подвергалась. Холинэстеразная активность ткани возрастала на протяжении всего опыта.

9. Среди исследуемых фракций катехоламинов в ткани поджелудочной железы преобладает норадреналин. Между концентрациями ацетилхолина и норадреналина, норадреналина и адреналина, ацетилхолина и холинэстеразной активностью гомогената поджелудочной железы после введения гидрокортизона существует отрицательная корреляционная взаимосвязь.

10. Изменение образования и экструзии ферментов поджелудочной железы под влиянием гидрокортизона в организме зависит от функционального состояния адренергических и холинергических механизмов регуляции, в частности в реализации гормонального эффекта участву-

ют α- и β-адренорецепторы, а также М-холинорецепторы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Хоанг Као Тай, Бергтраум Д.И. Влияние однократного введения гидрокортизона на амилолитическую и протеолитическую активность ткани поджелудочной железы и содержимого тонкого кишечника //Нейрогуморальная регуляция клеточных механизмов секреторного процесса: Вест.Львов. ун-та. Сер.биол., вып. 16.- Львов: Вища школа. Изд-во при Львов. ун-те, 1985. - С.68-73.

2. Бергтраум Д.И. Влияние гидрокортизона на экструзию пищеварительных ферментов поджелудочной железы в условиях in vitro// XII съезд Укр. физиол. общества: Тез. докл. - Львов, 1986. - С.27-28 (на укр.языке).

3. Бергтраум Д.И. Участие альфа- и бета-адренорецепторов в реализации влияния гидрокортизона на образование пищеварительных ферментов поджелудочной железы //XIУ Всесоюз. конф. по физиологии пищеварения и всасывания: Тез. докл. - Тернополь: Львов, 1986.- С.58-59.

4. Старостюк А.К., Гордий С.К., Бергтраум Д.И., Музыка Ф.В., Муращук М.М. Роль тканевого баланса медиаторов в регуляции клеточного механизма ферментовыделения в железах пищеварительного тракта //XУ съезд Всесоюз. физиол. общ-ва им. И.П.Павлова: Тез. докл.- Кишинёв, 1987. - С.484.

5. Бергтраум Д.И. Влияние разных доз гидрокортизона на активность пищеварительных ферментов в ткани поджелудочной железы и содержимом тонкого кишечника //Львов. гос. ун-т, 1987, 12с. - Деп. в УкрНИИНТИ 09.09.87, № 2347-Ук87.

6. Бергтраум Д.И. Влияние гидрокортизона на содержание медиаторных веществ и холинэстеразную активность ткани поджелудочной железы //Львов. гос. ун-т, 1989. - Деп. в УкрНИИНТИ 06.02.89, № 516-Ук89. - С.12-15.

7. Хоанг Као Тай, Бергтраум Д.И., Гаврилишин Х.В. Влияние введения гидрокортизона на активность трансаминаз и пищеварительных ферментов в печени и поджелудочной железе //XIII съезд Укр. физиол. общ-ва им. И.П.Павлова: Тез. докл. - Харьков, 1990. - Т.2.- С.164 (на укр. языке).

Подписано к печ. 24.10.90 Формат 60x84/16. Печать офсет. Бумага офсет. Усл. п.л. 0,93. Усл.кр. -отт 1,17 Уч.-изд.л. 1,0 Тираж 100 экз. Бесплатно. Зак. 3267.

Областная книжная типография, 290000, Львов, ул. Стефаника, 11