

вого этапа хирургического лечения с последующим выполнением «открытых» операций у пациентов с различными формами панкреатической инфекции позволяет установить отчетливую тенденцию в улучшении результатов оперативного лечения. При распространенном «несозревшем» инфицированном панкреонекрозе отсутствует эффект от миниинвазивных пункционно-дренирующих и эндоскопических вмешательств, используемых в качестве самостоятельного радикального метода лечения. Миниинвазивное лечение у данной категории пациентов позволяет добиться стабилизации общего состояния, подготовить к «открытому» хирургическому лечению, а также выполнять операцию в условиях наступившего «созревания» очагов инфицированного панкреонекроза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пугаев, А. В. Острый панкреатит / А. В. Пугаев, Е. Е. Ачкасов. — М.: Профиль, 2007. — 335 с.
2. Савельев, В. С. Панкреонекрозы / В. С. Савельев, М. И. Филимонов, С. З. Бурневич. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. — 264 с.
3. Bradley, E. L. 3rd. Management of severe acute pancreatitis: a surgical odyssey / E. L. 3rd. Bradley, N. D. Dexter // Ann. Surg. — 2010. — Vol. 251, №. 1. — P. 6–17.
4. Iovanna, J. Pancreatology: From Bench to Bedside / J. Iovanna, U. Ismailov: Springer, 2009. — 92 p.

УДК 577.15.03.

ОРНИТИНДЕКАРБОКСИЛАЗА СЕЛЕЗЕНКИ ЗИМОСПЯЩИХ СУСЛИКОВ SPERMOPHILUS UNDULATUS

Логвинович О. С.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Зимняя спячка (гибернация) — природное гипометаболическое состояние, благодаря которому гибернирующие млекопитающие способны переживать неблагоприятные условия окружающей среды (холод, сокращение светлого периода суток, отсутствие пищи). В зимний период состояние оцепенения позволяет млекопитающим значительно экономить энергетические ресурсы организма за счет радикального снижения уровня физиологических и обменных процессов. Зимняя спячка сусликов состоит из циклов, баутов (от англ. bout), прерываемых кратковременными пробуждениями. Специфические эндогенные механизмы зимоспящих позволяют им за короткий период пробуждения восстановить, измененный во время баута, уровень физиологических и обменных процессов. Орнитиндекарбоксилаза (ОДК, КФ 4.1.1.17.) — быстро обменивающийся, короткоживущий и динамично регулируемый фермент биосинтеза полиаминов, который может быть использован как наиболее чувствительный индикатор активности метаболизма клеток и тканей. Резкое повышение активности ОДК — одно из самых ранних молекулярных проявлений активированного метаболизма клетки, готовящейся к росту и делению, дифференцировке или активному выполнению специализированной функции [1].

Цель исследования

Изучение ферментативной активности ОДК в селезенке сусликов *Spermophilus undulatus* в активный летний период и в сезон гибернации. Предполагается, что изменение активности ОДК отражает функциональное состояние исследуемой ткани в различных физиологических состояниях зимоспящих. Изучение гипометаболических состояний млекопитающих — перспективное направление современной фундаментальной науки и медицины.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали зимоспящих млекопитающих (якутские суслики *Spermophilus undulatus*). Все процедуры с животными проводились в соответствии с требованиями институтской комиссии по этике и Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (European Communities Council Directive (86/609/ЕЕС)). Использовали животных обоих полов массой 600–850 г. Перед сезоном спячки сусликов переносили в темное помещение с температурой среды 1–3 °С и размещали в деревянных боксах. В подстилку гнезд были вмонтированы термодатчики, показания которых позволяли следить за состоянием животных. В сезон гибернации зимние суслики были разделены на четыре группы: 1 — спящие, которых декапитировали в середине баута при температуре тела от 1,0 до 7,0 °С (средняя температура тела 4,2 °С); 2 — пробуждающиеся животные, которых забивали до их перехода в активное состояние при температуре тела от 29,0 до 6,0 °С (средняя температура тела 22,0 °С) (выходящие суслики); 3 — активные зимние суслики — животные, активные между баутами спячки, которых забивали через 24 ч после пробуждения; 4 — входящие суслики — животные, которых использовали при входе в спячку при температуре тела от 36,6 до 6,7 °С (средняя температура тела 18,5 °С).

В ряде опытов состояние длиннохвостых сусликов *S. undulatus* оценивали по температуре тела и частоте сердцебиений (ЧС). Температуру измеряли ректально датчиком электротермометра ТЭМП–60 с точностью до 0,2 °С, помещаемого в ободочную кишку на глубину 6 см; ЧС регистрировали с помощью электроэнцефалографа ЭЭГ–4–02; отводящие ЭКГ игольчатые электроды располагали подкожно на левой передней лапе и над лопаткой животного. Для биохимических исследований сусликов декапитировали с помощью гильотины. После декапитации температуру тела сусликов оценивали с помощью датчика электротермометра в области сердца; селезенку извлекали и замораживали в жидком азоте, где хранили до момента исследования активности ОДК.

Для определения ферментативной активности орнитиндекарбоксилазы использовали меченый L-[1-¹⁴C] орнитин фирмы Amersham International, дитиотрейтол (ДТТ), L-орнитин, Трис фирмы Sigma, пиридоксаль-5'-фосфат (ПФ) от Ferak, Na₂-ЭДТА фирмы Acros, остальные реактивы отечественного производства квалификации не ниже «х. ч». Ткань гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком в 2–4 объемах 0,1 М Трис–НСl буфера (рН 7,5), содержащего 5 мМ ДТТ, 0,5 мМ ЭДТА, и 40 мкМ ПФ. Гомогенат центрифугировали при 20 тыс. × g в течение 30 мин при 4 °С и в супернатанте определяли активность фермента. Активность ОДК ткани по величине V_{max} определяли радиоизотопным методом по освобождению ¹⁴CO₂ из меченого L-[1-¹⁴C]орнитина с некоторыми модификациями [2]. Все образцы инкубировали в течение 1 ч при 37°С; реакцию останавливали добавлением 0,5 мл 40 % трихлоруксусной кислоты. Для поглощения выделяющегося ¹⁴CO₂ использовали полоски фильтровальной бумаги Ватман Whatman 3 ММ, смоченные 50 мкл 0,4 М Ва(ОН)₂ в 20 %-ном NaOH. Радиоактивность фильтров определяли на жидкостном сцинтилляционном счетчике SL–30 (Intertechnique, Франция). Определение количества белка проводили по стандартной методике Лоури.

Результаты экспериментальных исследований представлены как среднее ± стандартная ошибка. Достоверность различий устанавливали по t-критерию Стьюдента. Значение при p < 0,05 принималось статистически достоверным.

Результаты и обсуждение

В состоянии оцепенения в период гибернации активность ОДК в селезенке составляет 9,4 ± 1,8 % от уровня активности фермента летних сусликов (таблица 1).

Таблица 1 — Активность ОДК в селезенке сусликов *S. undulatus* в летний период и в различных физиологических состояниях в сезон гибернации

Физиологическое состояние сусликов	Активность ОДК пмоль CO ₂ × (ч × мг белка) ⁻¹
Летние	11,9 ± 1,4 (n = 13)
Зимние активные	8,0 ± 3,0 (n = 7)
Зимние входящие	2,0 ± 0,3* (n = 20)
Зимние спящие	1,1 ± 0,2* (n = 11)
Зимние выходящие	2,7 ± 0,2*(n = 9)

Различие достоверно по отношению к летним сусликам: *p < 0,05.

При этом снижение активности фермента происходит еще при вхождении зимоспящих сусликов в состояние оцепенения при температуре тела выше 20 °С, когда уровень физиологических и обменных процессов в тканях находится на достаточно высоком уровне. Ниже 20 °С значения активности ОДК не отличались от уровня активности фермента спящих животных. Анализируя полученные результаты, можно предположить наличие активной адаптивной регуляции ОДК в органах и тканях сусликов.

Селезенка — периферический орган иммунной системы, отвечающий за развитие гуморального ответа в организме млекопитающих. Из литературных данных известно, что в период гибернации происходит снижение функциональной активности иммунной системы. Кроме того, показано, что в состоянии оцепенения в сезон зимней спячки отсутствует иммунный ответ на введенный антиген; показан также сниженный ответ на митогены у спленоцитов, выделенных из спящих сусликов [3]. Снижение активности ОДК селезенки сусликов при вхождении в состояние оцепенения и собственно спячки сопоставимо и вероятнее всего определяется снижением функциональной активности иммунокомпетентных клеток селезенки. Высокая активность ОДК на первой стадии вхождения животных в оцепенение (при температуре тела выше 20 °С) $2,9 \pm 0,5$ пмоль CO₂ × (ч × мг белка)⁻¹, по-видимому, указывает на сохранение возможности клеток селезенки отвечать на антигенные и митогенные стимулы. Во время кратковременных пробуждений у межбугорных зимних сусликов показано повышение ферментативной активности ОДК селезенки. Предполагается, что периодические пробуждения зимоспящих необходимы для активации иммунной системы и ликвидации патогенной микрофлоры, накопленной во время спячки [4]. Повышающийся уровень активности ОДК в селезенке у межбугорных сусликов, по-видимому, свидетельствует о восстановлении функциональной активности иммунокомпетентных клеток. Из литературных данных известно, что после иммунизации крыс происходит повышение активности ОДК в селезенке [5].

Таким образом, изменение активности ОДК (маркера активации клеток) в период зимней спячки совпадает с функциональным состоянием селезенки сусликов. Ингибирование активности ОДК селезенки коррелирует со снижением функциональной активности иммунной системы.

Автор статьи выражает благодарность коллективу лаборатории регуляции апоптоза Учреждения Российской академии наук Института биофизики клетки РАН (г. Пущино) за помощь в проведении экспериментальной работы и обсуждении результатов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00993-а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pegg, A. E. Regulation of ornithine decarboxylase / A. E. Pegg // The J. of biol. chem. — 2006. — Vol. 281; № 21. — P. 14529–14532.
2. Slozhenikina, L.V. Ornithine decarboxylase in organs of rat following chronic irradiation at low dose-rates / L.V. Slozhenikina, L. A. Fialkovskaya, I. K. Kolomiitseva // Int. J. Radiat. Biol. — 1999. — Vol. 75. — P. 193–199.
3. Carey, H. V. Mammalian Hibernation: Cellular and molecular responses to depressed metabolism and low temperature / H. V. Carey, M. T. Andrews, S. L. Martin // Physiol Rev. — 2003. — Vol. 83. — P. 1153–1181.
4. Periodic arousal from hibernation is necessary for initiation of immune responses in ground squirrels / B. J. Prendergast [et al.] // Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol. — 2002. — Vol. 282. — P. 1054–1062.
5. Effect of pinealectomy, superior cervical ganglionectomy, or melatonin treatment on 24-hour rhythms in ornithine decarboxylase and tyrosine hydroxylase activities of rat spleen / D. P. Cardinali [et al.] // J Pineal Res. — 1997. — Vol. 22, № 4. — P. 210–220.