creases histaminolytic and histaminopectic properties of blood plasma and prevents a decrease in the histamine-binding character of the liver.

Institute of Endocrinology and Metabolism,
Kiev, USSR

1. *Геллер Л. И., Козлова З. П.* Клиническое значение нарушений обмена гистамина при некоторых заболеваниях // Врачеб. дело. — 1969. — № 8. — С. 50—52.
2. *Горяченкова Е. В.* О природе активных групп диаминоксидазы (гистаминазы) // Биохимия. — 1956. — **21**, № 2. — С. 248—256.
3. *Захарова А. Ф., Митрохина Н. М., Плотникова Н. Е. и др.* Лечение спленином вазомоторного и аллергического ринита у детей // Сов. медицина. — 1976. — № 7. — С. 108—110.
4. *Кассиль Г. И., Вайсфельд И. Л.* Обмен гистамина при некоторых формах нервной патологии // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1959.—3, № 3. — С. 16—22.
5. *Когосова Л. И., Чернушенко Е. Ф., Молотков В. И. и др.* Влияние спленина на иммунологическую реактивность и эффективность лечения больных бронхиальной астмой // Тез. докл. 3 симпоз. аллергол. и иммунол. о-ва соц. стран, Сухуми, 26 июня 1979. — Тбилиси. 1979. — С. 78—79.
6. *Когосова Л. И., Гончарова С. И., Петрашенко А. И. и др.* Влияние спленина и левамизола на иммунологическую реактивность больных легочной патологией // Актуальные проблемы современной патофизиологии. — Киев : Наук. думка, 1981. — С. 175—177.
7. *Кричевская Е. И., Капитонова Г. В.* Действие ионизирующей радиации на механизмы, регулирующие уровень свободного гистамина в организме // Гисто-гематические барьеры и ионизирующая радиация. — М. : Медицина, 1963. — С. 140—158.
8. *Мещерякова С. А.* Флуорометрический метод определения гистамина в крови и тканях // Лаб. дело. — 1971.— № 2. — С. 103—105.
9. *Тарасов Д. И., Митрохин Н. М., Захарова А. Ф., Николаевская В. П.* Лечение вазомоторного ринита у детей // Вестн. отоларингологии. — 1976. — № 5. — С. 57—61.
10. *Хан Ф.* Гистаминаза при анафилаксии морских свинок // Проблемы иммунологической реактивности и аллергии. — М. : Медицина, 1971. — С. 183—188.
11. *Code C. F., Cody D. T., Hurn M. M. et al.* The simultaneous release of histamine and a histamine-destroyong factor during anaphylaxis in rats // J. Physiol. — 1961.—**156**. — P. 207—216.
12. *Dave K. C., Sachdev K. S.* The effect of anaphylactic shock and prednisolone administration on the histaminolytic activity of guinea-pig liver // Brit. J. Pharmac. Chemother. — 1967.—**30**. — P. 224—228.
13. *Giert H., Hahn F.* Mechanism of histaminase liberation in guinea Pig Anaphylaxis // Int. Arch. Allergi. — 1969.—**36**. — P. 41—44.
14. *Schmutzler N., Hahn F., Seseke G., Bernauer W.* Über die Herkunft der Plasmahistaminase in anaphylaktischen Schock des Meerschwinchens // Arch. Exp. Pathol. Pharmak. — 1966.—**252**. — P. 332—338.

Киев. ин-т эндокринологии
и обмена веществ МЗ УССР

Поступила 10.12.85

УДК 612.34:612.015.1

М. А. Галькив

СЕКРЕЦИЯ АМИЛАЗЫ ИЗОЛИРОВАННОЙ ТКАНЬЮ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС

Поджелудочная железа у разных видов животных характеризуется особенностями строения и функции, регулируется различными факторами, в частности нервными, гуморальными, током крови. Исследования в условиях организма усложняются комплексным влиянием всех этих факторов и в ряде случаев оказывается сложно или почти невозможно точно оценить действие того или иного агента.

За последние 10 лет разработаны методы сосудистой перфузии изолированной поджелудочной железы собаки [9], кошки [14], крысы [15], кролика [13], сконструированы камеры для перфузионного выделения клеток и фрагментов ткани [11], используются методы исследования на изолированных ацинусах, фрагментах поджелудочной же-

лезы [5, 10], изолированных клетках [8, 12] и протоках [7]. Большинство исследований, проведенных на этих препаратах, осуществляли в ранние периоды после выделения.

Нас заинтересовала возможность использования инкубированных фрагментов поджелудочной железы крыс для длительных исследований и способность железистой ткани реагировать на внешние воздействия. Кроме того, мы пытались доказать возможность прямого воздействия в этих условиях на ацинарные клетки таких холинотропных веществ, как ацетилхолин и атропин, что может служить показателем наличия холинорецепторов мускаринового типа на мембранах секреторных клеток поджелудочной железы.

Методика

Исследования выполнены на белых лабораторных крысах массой 180—250 г, голодавших перед опытом 22—24 ч. Ткань поджелудочной железы сразу после декапитации помещали в охлажденную фарфоровую чашку, быстро измельчали никелированными ножницами на мелкие частицы размером приблизительно 1—2 мм. Ткань (50 мг) помещали в раствор Кребса и инкубировали при температуре 37 °С. С целью воздействия на холинорецепторы в отдельные пробы параллельно с контролем добавляли ацетилхолинхлорид или атропинсульфат (концентрация $1 \cdot 10^{-4}$ г/мл). Эти пробы исследовали в течение 10 ч. С целью выяснения способности ткани реагировать на внешние воздействия в зависимости от времени инкубации ацетилхолинхлорид и атропинсульфат (концентрация $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл) добавляли в инкубационную среду после 1, 3, 5 и 7 ч инкубации. По истечении каждого часа в инкубационной среде определяли амилолитическую активность [3], которую рассчитывали в граммах расщепленного крахмала на грамм сырой ткани в минуту. Результаты исследований анализировали методом вариационной статистики, достоверность определяли методом парных сравнений.

Результаты и их обсуждение

Инкубирование измельченной ткани поджелудочной железы в растворе Кребса сопровождается выделением тканью амилазы и повышением амилолитической активности среды, что свидетельствует о неиндуцированной, спонтанной, экструзии клетками фермента. В условиях предварительного голодания (22—24 ч) поджелудочная железа переходит в состояние «покоя», в большинстве секреторных клеток ацинусов наблюдается зимоген [6], в остальных клетках гранулы зимогена располагаются только в апикальной части [4].

Железистая ткань in vitro способна продуцировать амилазу длительное время. Активность α-амилазы в инкубационной среде возрастает с $(0{,}42 \pm 0{,}01)$ $г \cdot г^{-1} \cdot мин^{-1}$ за 1 ч инкубации до $(7{,}24 \pm 0{,}40)$ $г \cdot г^{-1} \times мин^{-1}$ за 10 ч. В результате расчета концентрации выделенного фермента за каждый последующий час инкубации видно увеличение амилолитической активности на протяжении первых 6 ч с последующим снижением (рис. 1, *2*) вплоть до полного отсутствия экструзии в отдельных опытах. В процентном отношении прирост активности фермента уменьшается от 124,2 за второй час по сравнению с первым до 4,3 % за десятый час по сравнению с девятым (см. рис. 1, *3*). Принимая во внимание тот факт, что в отдельных опытах за 10 ч секреция не наблюдается, условно считаем, что падение секреции составляет 100 %, и по отношению к этому значению рассчитываем падение активности за каждый предыдущий час, которая к концу первого часа составляет 7,5 % (см. рис. 1, *1*).

Ацетилхолин ($1 \cdot 10^{-4}$) в этих же условиях вызывает увеличение активности α-амилазы в течение 1—2 ч с последующим снижением (рис. 2, *1*), что мы наблюдали ранее в опытах при введении этого вещества in vivo [2]. Добавление в инкубационную среду М-холиноблокатора атропина привело к достоверному длительному снижению амилолитической активности инкубационной среды, не поднимавшейся до уровня контроля в течение всего эксперимента (см. рис. 2, *2*). Атропин

при введении в организм вызывает торможение экструзии ферментов на протяжении 5—7 ч [1, 4].

Возникает вопрос, что является причиной длительного увеличения амилолитической активности инкубационной среды. Происходит ли это за счет активного выделения фермента секреторными клетками или,

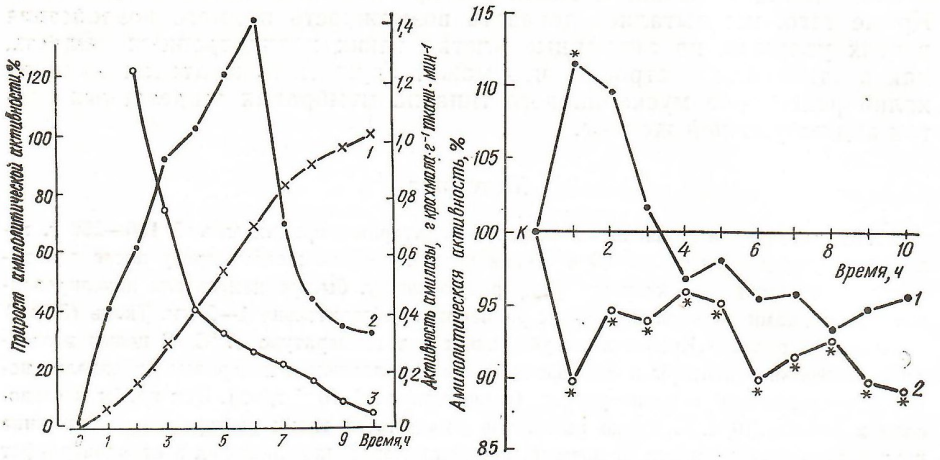

Рис. 1. Секреция α-амилазы тканью поджелудочной железы в период ее инкубации: *1* — выделение амилазы (% общей контрольной продукции через 10 ч, принятой за 100 %); *2* — выделение амилазы (г·г$^{-1}$·мин$^{-1}$); *3* — прирост амилолитической активности (%). Более детальные обозначения даны в тексте.

Рис. 2. Динамика изменения амилолитической активности инкубационной среды при введении $1 \cdot 10^{-4}$ г/мл ацетилхолина (*1*) и атропина (*2*). Контроль условно принят за 100 % во все периоды исследования. Здесь и на рис. 3 звездочкой обозначены значения, отличия которых от контроля статистически достоверны ($P<0{,}05$).

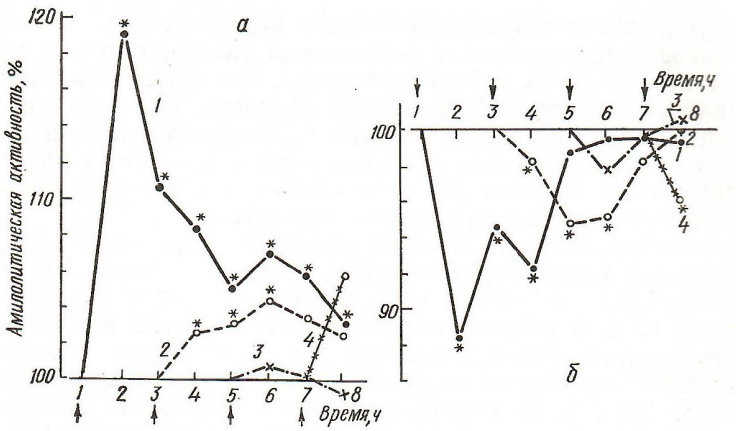

Рис. 3. Изменения амилолитической активности инкубационной среды при введении $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл ацетилхолина (*а*) и атропина (*б*) через 1 (*1*), 3 (*2*), 5 (*3*) и 7 (*4*) часов. Стрелками отмечены моменты добавления ацетилхолина и атропина. Остальные обозначения такие же, как и на рис. 2.

возможно, за счет деструктивных явлений ацинарной ткани в результате длительного инкубирования? Для разрешения этого вопроса фармакологические вещества добавляли в среду через 1, 3, 5 и 7 ч после начала эксперимента. При добавлении ацетилхолина ($1 \cdot 10^{-5}$) во все периоды наблюдали увеличение выделения амилазы (рис. 3, *а*), носящее достоверный характер в двух первых случаях. Введение в пробы атропина (той же концентрации) приводит к снижению амилолитической активности инкубационной среды (см. рис. 3, *б*), причем наиболее четкие изменения, как и при действии ацетилхолина, наблю-

даются после введения холинолитического вещества через 1 и 3 ч после начала инкубации.

Таким образом, инкубированные фрагменты поджелудочной железы способны длительное время выделять амилазу и могут служить подлинными объектами для изучения фармакологических влияний на этот орган в опытах in vitro. Но и Rothmaw [10] считают, что ингибирование секреции амилазы в опытах in vitro связано не с потерей клетками чувствительности, а, вероятно, с выделением тканью недиализирующего вещества, которым может оказаться сама амилаза.

Судя по результатам, полученным нами в последней серии опытов, можно предположить, что чувствительность ацинарных клеток со временем уменьшается и это проявляется в снижении способности ткани реагировать на введение в среду холинотропных агентов. Способность ацетилхолина и атропина воспроизводить в опытах in vitro холинотропный эффект дает нам основание утверждать, что ацинарные клетки поджелудочной железы содержат М-холинорецепторы, которые могут блокироваться атропином.

M. A. Galkiv

AMYLASE SECRETION BY THE ISOLATED TISSUE OF THE RAT PANCREAS

Tissue fragments of the rat pancreas release alpha-amylase into the incubation medium for a long time. Amylolytic activity of the medium increases during the first 6 hours of incubation, and during the following 4 hours decreases until the absolute break in the enzyme secretion. Amylolytic activity for each following hour in comparison with the previous one decreases during the whole experiment. Acetylcholine (1×10^{-4}) stimulates spontaneous amylase secretion during the first two hours. Atropin (the same concentration) inhibits the enzyme secretion during the whole experiment (10 hours). Acetylcholine and atropin being added into the incubation medium in 1×10^{-5} g/ml concentration induce the adequate changes in the amylolytic activity in the media at all stages of the investigation 1, 3, 5 and 7 hours after the beginning of incubation. These cholinotropic matters excite the most distinct effect at the beginning of their action.

State University, Lvov

1. *Бабкин Б. П.* Секреторный механизм пищеварительных желез. — Л. : Медгиз, 1960.— 777 с.
2. *Галькив М. А., Грель Л. М., Чайковская Г. Я.* О влиянии ацетилхолина и атропина на ферментативную активность поджелудочной железы // Нейрогуморальная регуляция клеточных механизмов секреторного процесса: Вестн. Львов. ун-та. Сер. биол., 1985, вып. 16. — С. 18—25.
3. *Определение* активности α-амилазы в сыворотке крови, моче и дуоденальном содержимом амилокластическим методом со стойким крахмальным субстратом (метод Каравея) // Лаб. дело. — 1976. — № 11. — С. 691—692.
4. *Пермяков Н. К., Подольский А. Е., Титова Г. П.* Ультраструктурный анализ секреторного цикла поджелудочной железы. — М. : Медицина, 1973.—240 с.
5. *Шостаковская И. В., Клевец М. Ю., Рыбак И. М.* Температурная зависимость экструзии амилазы // Физиол. журн. — 1979.—25, № 3. — С. 313—314.
6. *Шубникова Е. А.* Цитология и цитофизиология секреторного процесса. — М. : Изд-во Моск. ун-та, 1967.—116 с.
7. *Fölsch U. R., Fischer H., Söling H. D., Creutzfeldt W.* Isolation of functionally and morphologically intact pancreatic duct cells of the rat // Eur. J. Invest. — 1977.—7, N 3. — P. 231.
8. *Gardner I. D., Jackson M. J.,* Regulation of amylase release from dispersed pancreatic acinar cells // J. Physiol. (Gr. Brit). — 1977.—270, N 2. — P. 439—454.
9. *Hermon-Taylor J., Chir B.* A technique for perfusion of the isolated canine pancreas: Responses to secretin and gastrin // Gastroenterology. — 1968.—55, N 3. — P. 488—501.
10. *Ho J. L., Rothman S. S.* Origin of the decline in pancreatic amylase secretion with time in vitro // Amer. J. Physiol. — 1983.—245, N 1. — C21—C27.
11. *Jates A. P., Gordon C.* A cell perifusion studies of isolated tissues // Med. Lab. Sci.— 1982.—39, N 4. — P. 399—401.
12. *Kaufman M. E., Grand R. J.* Secretory capacity of isolated pancreatic acinar cells // Pediat. Res. — 1978.—12, N 4. — P. 288—292.

13. *Saito T.* A technique for perfusion of the isolated rabbit pancreas // Jap. J. Pharmacol. — 1984.—**34**, N 1. — P. 43—50.
14. *Schulz I.* The role extracellular Ca^{2+} and cyclis nucleotides in the mechanisms of enzyme secretion from the cat pancreas // Pflugers Arch. — 1975.—**360**, N 2. — P. 165—181.
15. *Tournut R., Estival A., Vaysse N. et al.* In-situ-isolated perfused rat pancreas: a new method for pharmacological studies of the exocrine pancreas // Digestion. — 1977.—**15**, N 4. — P. 329—337.

Львов. ун-т им. И. Франко
МВССО УССР

Поступила 29.07.85

УДК 612.339:615.777.99:577.156

А. А. Синовец, В. Л. Базелян, С. В. Вовчук

ПРОТЕОЛИЗ И ПРОНИЦАЕМОСТЬ ГИСТОГЕМАТИЧЕСКИХ БАРЬЕРОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ

Проблема лечения гнойного перитонита, которая и сегодня далека от разрешения, выдвигает необходимость углубленного изучения различных сторон патогенеза этого заболевания. Один из самых существенных моментов патогенеза перитонита — эндогенная интоксикация, причины возникновения и механизм развития которой являются объектом изучения в эксперименте и клинике [5, 8].

В ряде работ показана важная роль в патогенезе интоксикации при перитоните активации калликреин-кининовой системы, развития трипсинемии [5], что приводит к нарушению микроциркуляции, функции сердечно-сосудистой и дыхательной систем, повышению сосудистой проницаемости [10].

При перитоните в брюшной полости накапливается большое количество токсических веществ, в том числе протеаз и продуктов их взаимодействия с белковыми структурами, которые, всасываясь в кровь, усиливают интоксикацию и способствуют образованию среднемолекулярных пептидов. В настоящее время полагают, что эти вещества играют важную роль в формировании интоксикации [3, 8].

Цель нашей работы — изучение протеолиза, ингибиторного потенциала, содержания среднемолекулярных пептидов и токсичности сыворотки крови животных в динамике развития гнойного перитонита, состояния некоторых гистогематических барьеров, а также изучение влияния ингибиторов протеолиза (контрикала) на эти показатели.

Методика

Эксперименты выполнены на 173 белых разнополых крысах линии Вистар массой 250—280 г. Разлитый гнойный перитонит воспроизводили по методике Дерябина (1963). Протеолиз в сыворотке крови изучали методами Kunitz, Anson в модификации Левицкого [6]; содержание белка — по Lowry, ингибитор трипсина — по Левицкому [6]; концентрацию среднемолекулярных пептидов — по Габриэляну [2]; биологическую токсичность — по Сахновской [9].

Проницаемость гистогематических барьеров исследовали радиоизотопным методом, используя в качестве индикатора $Na^{125}I$ (В/О «Изотоп»). Изотоп вводили внутривенно в дозе $14{,}8 \cdot 10^5$ Бк/кг массы животного за 1 ч до исследования. Для радиометрии отбирали по 0,1 мл крови, а также навески сырой ткани печени, почек и головного мозга. Кровь и исследуемые ткани наносили на мишени и высушивали до постоянной массы. Исследуемый материал радиометрировали на низкофоновой установке УМФ-1500-М. Эффективность счета составила 10 % при фоне 0,17 Бк. Животным контрольной группы внутрибрюшинно вводили по 1,0 мл физиологического раствора два раза в сутки, животным опытной группы внутрибрюшинно вводили контрикал (ГДР) по 4000 АТрЕ/кг два раза в сутки. Забор крови и тканей осуществляли после выведения из опыта путем обескровливания под эфирным наркозом.