

THE IMPORTANCE OF ANAEROBIC MICROORGANISMS IN THE DEVELOPMENT OF HOSPITAL – ACQUIRED INFECTIONS

*S.V.Biriukova, V.F.Diachenko, Z.G.Starobinets, Yu.A.Yahniuk,
V.I.Cherniavskiy, A.M.Mariushchenko, I.Yu.Kuchma, N.F.Dziuban*

Abstract. The paper clears up the role of the anaerobic microorganisms in the development of hospital – acquired infections in clinics of different profiles.

Key words: hospital – acquired infection, anaerobic asporogenic bacteria, antibiotics, resistance.

Medical Academy of Post – Graduate Education (Kharkiv)
I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of Ukrainian AMS (Kharkiv)

Buk. Med. Herald. – 2003. – Vol.7, №1. – P.186–189.

Надійшла до редакції 18.11.2002 року

УДК 612.826.33:591.463.2:612.018

І.І.Заморський

ВПЛИВ ПІНЕАЛЕКТОМІЇ НА СТЕРОЇДОГЕНЕЗ У СІМ'ЯНИКАХ ІНФАНТИЛЬНИХ ЩУРІВ

Кафедра фармакології та фармації (зав. – д.мед.н. І.І.Заморський)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Вивчено вплив пінеалектомії на активність стероїд- Δ^5 - 3β -ол-дегідрогенази в сім'яниках та розвиток статевих залоз інфантильних щурів віком 4–5 тижнів після одного і двох тижнів спостережень. Встановлено, що пінеалектомія призводить до підвищення активності стероїд- Δ^5 - 3β -ол-дегідрогенази і прискорення розвитку статевих залоз. При цьому через два тижні вплив пінеалектомії виражений значніше, ніж через один тиждень.

Ключові слова: пінеалектомія, стероїд- Δ^5 - 3β -ол-дегідрогеназа, сім'яники, інфантильні щури.

Вступ. Пригнічувальний вплив шишкоподібного тіла (пінеальної залози, епіфіза мозку, ШТ) на статевий розвиток і статеву активність доведено досить давно [1]. Однак, незважаючи на численність досліджень, біологічне значення цього впливу залишається невідомим. Тільки починають з'ясуватися механізми гальмування секреції гонадотропінів на рівні гіпоталамуса та гіпофіза [2]. А ефекти впливу ШТ на рівні статевих залоз оцінюються в багатьох роботах за допомогою морфометричних тестів та на підставі визначення рівнів гормонів, що продукуються в статевих залозах. Такі критерії недостатні для з'ясування природи та механізму ендокринного ефекту ШТ при дії на статеві залози.

Практично відсутні дослідження, на підставі яких можна було б виділити ті функціональні ланки статевих залоз, на які може бути спрямована безпосередня дія гормонів ШТ. Цьому могли б сприяти дослідження змін синтезу стероїдних гормонів гонадами у відповідь на впливи ШТ. Однозначні результати при дослідженні таких змін отримані лише в жіночому організмі [1]. А в чоловічому – наводяться суперечливі дані: одні дослідники не виявили змін в утворенні тестостерону під впливом екстрактів ШТ при дослідженні "in vitro" [10]; інші – показали пригнічення стероїдогенезу при додаванні мелатоніну до культури тканин сім'яників [7].

Проведення досліджень активності ферментів стероїдогенезу в сім'яниках щурів після видалення ШТ могло б сприяти з'ясуванню конкретних механізмів дії ШТ на статеву систему.

Мета дослідження. Встановити вплив видалення ШТ (пінеалектомії) на активність ключового для синтезу тестостерону в сім'яниках комплексу ферментів [3] –

стероїд- Δ^5 - 3β -ол-дегідрогенази (СДГ), тобто спільну активність 3β -оксистероїддегідрогенази [КФ 1.1.1.145] та Δ^5 - Δ^4 -ізомерази [КФ 5.3.3.1.], – у статевонезрілих щурів через один і два тижні після операції.

Матеріал і методи. Експерименти проведені на 51 статевонезрілому (інфантильному) самці безпородних білих щурів у віці 4–5 тижнів, які були розподілені на 2 групи. Проведено три серії дослідів. Щурів утримували при температурі 20–24°C на стандартному вітамінізованому харчовому раціоні з вільним доступом до води, що дозволяло уникнути стимулювання антигонадної дії ШТ при гіпер- та гіпотермії, голодуванні та зневодненні організму в інтактних та несправжньооперованих тварин. Тварини знаходились у досліді 7 (I група) і 14 (II група) діб за природних умов освітлення в осінній період року (у жовтні місяці). На початку досліджень тваринам виконували пінеалектомію за методом J. Kitau, M. Altschul в модифікації В. П. Пішака [5]. Несправжньооперованим тваринам здійснювали тільки трепанацію черепа (вирізання кісткової пластинки без її піднімання).

По закінченні дослідів щурів декапітували та забирали гіпофіз, сім'яники, придатки сім'яників, комплекс додаткових статевих залоз (передміхурова та коагуляційні залози, сім'яні пухирці). Один сім'яник заморожували при –20°C для подальшого визначення активності СДГ, яке здійснювали модифікованим спектрофотометричним методом О. Г. Резнікова і співавт. [6]. Вміст андростендіону визначали за світлопоглинанням на спектрофотометрі СФ-46 (ЛЮМО. Росія) при довжині хвилі 240 нм. Активність СДГ виражали кількістю Δ^4 -3-кетостероїдів (за стандартом андростендіону) у мкг за 90 хв інкубації у перерахунку на грам сирової тканини (загальна активність СДГ у грамі залози), цілий сім'яник (сумарна активність в органі) та мг білка (питома активність на одиницю біополімеру). Вміст загального білка в гомогенатах тканин сім'яників визначали за методом Лоурі-Фоліна.

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики за допомогою пакета програми "Statgraphic". Вірогідність різниць двох груп оцінювали за параметричним критерієм t Стьюдента і непараметричним критерієм U Вілкоксона-Манна-Уїтні; кореляційні зв'язки оцінювали за допомогою параметричного коефіцієнта кореляції r.

Результати дослідження та їх обговорення. Контрольні дослідження проведені на 18 інтактних тваринах і 14 несправжньооперованих тваринах. Результати дослідів наведені в таблицях 1–3. Показники відносної гравіметрії сім'яників та їх придатків, додаткових статевих залоз та гіпофіза інтактних щурів через один і два тижні після початку досліджень відповідали даним літератури для цього віку тварин [9]. Ензиматична активність у сім'яниках (табл. 3) також відповідала літературним даним [6] з поправкою на вік тварин [12] та осінній період року [8]. При цьому показники гравіметрії статевих залоз на кінець другого тижня досліджень зросли в середньому на 25–30% ($P < 0,05$) у порівнянні з показниками після одного тижня досліджень, а показники стероїддегідрогеназної активності в сім'яниках – у середньому на 30–50% ($P < 0,05$) і вміст білка в сім'яниках – в середньому на 17% ($P < 0,05$), що пояснюється загальним розвитком статевої системи щурів. У несправжньооперованих тварин всі досліджені показники гравіметрії та ензиматичної активності в сім'яниках не відрізнялися від відповідних показників в інтактних щурів.

Таблиця 1
Вплив пінеалектомії на середню масу сім'яників, їх придатків та гіпофіза інфантильних щурів ($M \pm m$)

Характер впливу	Середня маса органа в мг на 100 г маси тіла		
	сім'яників	придатків сім'яників	гіпофіза
I. Через 7 днів після операції			
Інтактні тварини	718,2±65,66	78,2±7,65	3,5±0,15
Несправжня операція	702,8±75,32	69,7±6,38	3,3±0,22
Пінеалектомія	812,1±58,93	82,6±7,49	4,0±0,36
II. Через 14 днів після операції			
Інтактні тварини	909,7±76,44***	98,7±8,29***	4,2±0,39
Несправжня операція	885,7±92,21	105,6±12,15	4,4±0,42
Пінеалектомія	1109,6±71,57**	120,9±10,97*	4,9±0,27*

Примітка. * – Зміни вірогідні щодо показників у порівнянні з інтактними тваринами при тих же термінах спостережень, $p < 0,05$; ** – зміни вірогідні щодо показників у порівнянні з інтактними та несправжньооперованими тваринами при тих же термінах спостережень, $p < 0,05$; *** – зміни вірогідні щодо показників у порівнянні з інтактними тваринами через 7 днів після операції, $p < 0,05$.

Таблиця 2

Вплив пінеалектомії на середню масу додаткових статевих залоз інфантильних щурів (M±m)

Характер впливу	Середня маса органа в мг на 100 г маси тіла			
	комплексу додаткових статевих залоз	сім'яних пухирців	коагуляційних залоз	вентральної частки простати
I. Через 7 днів після операції				
Інтактні тварини	75,0±6,37	9,3±1,84	4,2±0,88	28,2±3,24
Несправжня операція	63,4±8,02	8,9±1,98	3,8±0,86	24,5±4,07
Пінеалектомія	79,8±6,91	17,0±2,01**	7,1±0,64**	36,1±4,36
II. Через 14 днів після операції				
Інтактні тварини	92,4±6,95***	14,7±1,96***	6,9±0,37***	37,8±3,72***
Несправжня операція	99,3±10,21	15,9±2,07	7,3±0,57	39,4±4,26
Пінеалектомія	123,8±15,74*	24,3±3,06**	9,6±0,51**	48,9±3,08**

Примітка. Умовні позначення див. після табл. 1.

Таблиця 3

Вплив пінеалектомії на активність стероїд- Δ^5 -3 β -ол-дегідрогенази і вміст білка в сім'яниках інфантильних щурів (M±m)

Характер впливу	Активність стероїд- Δ^5 -3 β -ол-дегідрогенази в сім'яниках			Вміст білка в 5% гомогенатах тканин сім'яників, мг/мл
	на г тканини	на орган	На мг білка	
I. Через 7 днів після операції				
Інтактні тварини	120,9±10,58	34,5±4,28	0,57±0,041	1,92±0,114
Несправжня операція	117,1±12,64	30,4±5,34	0,52±0,058	1,96±0,157
Пінеалектомія	152,3±15,27	49,6±6,79**	0,67±0,072	2,04±0,130
II. Через 14 днів після операції				
Інтактні тварини	158,7±14,53***	52,9±7,40***	0,73±0,058***	2,25±0,121***
Несправжня операція	151,4±18,69	49,8±8,25	0,71±0,069	2,26±0,206
Пінеалектомія	199,9±16,25**	68,9±4,12**	0,88±0,053**	2,37±0,097*

Примітка. Умовні позначення див. після табл. 1.

Через тиждень після пінеалектомії у статевонезрілих щурів зареєстровано збільшення сумарної активності СДГ у сім'яниках (активність у цілому органі) в середньому на 44% і 63% ($P < 0,05$) відповідно в порівнянні з показниками в інтактних і несправжньооперованих тварин (табл. 3). Показники загальної та питомої стероїддегідрогеназної активності в сім'яниках через один тиждень після пінеалектомії відповідно не змінювалися. Зареєстровано збільшення відносних мас сім'яних пухирців у середньому на 83% ($P < 0,02$) і 91% ($P < 0,025$) та коагуляційних залоз у середньому на 69% ($P < 0,025$) і 87% ($P < 0,01$) у порівнянні з показниками інтактних і несправжньооперованих тварин відповідно (табл. 2).

Збільшення відносної маси сім'яних пухирців через 11–12 днів після пінеалектомії було зареєстровано іншими дослідниками [4, 11]. А виявлене нами збільшення сумарної стероїддегідрогеназної активності в сім'яниках вже через 7 діб після видалення ШТ пояснює таке зростання маси сім'яних пухирців і коагуляційних залоз: підвищення продукції тестостерону сім'яниками призводить до прискорення розвитку гормонзалежних додаткових статевих залоз.

У пінеалектомованих щурів через два тижні після операції відмічено прискорення розвитку статевих залоз (табл. 1–2). Крім збільшення відносної маси сім'яних пухирців і коагуляційних залоз зареєстровано збільшення показників відносної гравіметрії вентральної частки передміхурової залози (в середньому на 29%, $P < 0,025$; і

24%, $P < 0,05$) та сім'яників (в середньому на 22%, $P < 0,01$; і 25%, $P < 0,05$) у порівнянні відповідно з показниками в інтактних та несправжньооперованих тварин. Виявлено також збільшення відносної маси гіпофіза в середньому на 22% ($P < 0,05$) у порівнянні з показниками у щурів з видаленням ШТ через один тиждень після операції.

При дослідженні ензиматичної активності в сім'яниках пінеалектомованих щурів через два тижні після операції зареєстровано (табл. 3) збільшення не тільки сумарної стероїддегідрогеназної активності, але й загальної (в середньому на 26% і 32%, $P < 0,05$) і питомої (в середньому на 20% і 24%, $P < 0,05$) активності в порівнянні з показниками в інтактних і несправжньооперованих тварин відповідно (табл. 3). Таким чином, після видалення ШТ активізується один з ключових ферментів синтезу тестостерону в сім'яниках – СДГ. При цьому реєструється позитивний кореляційний зв'язок між відотною масою сім'яних пухирців і загальною стероїддегідрогеназною активністю в сім'яниках ($r = 0,76 \pm 0,297$, $P < 0,05$).

Пінеалектомія за даними багатьох авторів вже через 11–12 днів після операції супроводжується збільшенням маси гонад і додаткових статевих залоз або прискоренням статевого дозрівання при видаленні ШТ у препубертатному віці. При цьому особливо збільшується маса сім'яних пухирців і вентральної частки передміхурової залози [11]. Інші дослідники не спостерігали впливу пінеалектомії на розвиток статевих залоз у щурів, що пояснюють різними умовами освітлення та харчування, віком тварини, швидкоплинністю ефектів пінеалектомії [11]. Показано, що після видалення ШТ збільшувався рівень тестостерону в сім'яниковій вені (в три рази) та в плазмі периферичної крові (особливо в зимово-весняний період року). Однак влітку реєструвалися протилежні зміни – зменшення рівня тестостерону [4]. При неонатальній пінеалектомії зареєстровано збільшення рівня тестостерону й андростендіолу в сім'яниках [10]. Найбільш чітко антигонадотропні ефекти ШТ у щурів усувалися пінеалектомією за умов потенціювання активності ШТ за допомогою неонатальної андрогенізації (введення статевих гормонів після народження), аносмії (видалення нюхових цибулин) і голодування [11].

Такі зміни в статевих залозах супроводжувалися зміною активності гіпоталамо-аденогіпофізирної системи. Пінеалектомія стимулювала включення H^3 -лейцина в ряд ядер гіпоталамуса, збільшувала рівні лютропіну і фолітропіну в крові (при одночасному утриманні щурів за умов темряви) та зменшувала рівень пролактину в крові з одночасним збільшенням його вмісту в гіпофізі у статевонезрілих щурів [7]. Ці зміни в гіпоталамо-гіпофізарній системі усувалися введенням мелатоніну [1]. Отже, аналіз літературних даних показує, що ШТ пригнічує розвиток статевих залоз, а після видалення ШТ виникає більш або менш виражене прискорення статевого дозрівання і підвищення активності репродуктивної системи.

Отримані нами результати свідчать про пригнічувальний вплив ШТ на стероїддегідрогеназну активність у сім'яниках. Такий вплив ШТ може здійснювати за допомогою своїх гормонів (мелатоніну, аргінінвасотоцину) як на рівні гіпоталамо-гіпофізарної системи, так і безпосередньо на рівні статевих залоз [2]. Встановлено, що мелатонін здатний зменшувати утворення і секрецію гонадоліберину в гіпоталамусі і гонадотропінів (фолітропіну і лютропіну) в аденогіпофізі [2, 11]. А зменшений рівень гонадотропінів у крові призводить до пригнічення розвитку сім'яників (зменшення рівня фолітропіну) та пригнічення активності ферментів тестостерону в клітинах Лейдига (зменшений рівень лютропіну).

Про безпосередній вплив на рівні статевих залоз вказують досліді з дією мелатоніну на культуру тканин сім'яників [7]. У таких дослідіах показано, що мелатонін пригнічує синтез тестостерону на стадіях прегненолон-прогестерон-17-оксипрогестерон. При цьому вважають, що пригнічувальний ефект мелатоніну обумовлений дією не на енергетичні реакції, а на ферментативні системи, що беруть участь у синтезі тестостерону [11, 12]. Отже, після видалення ШТ збільшується рівень синтезу та секреції гонадотропінів аденогіпофізом (про що може свідчити збільшення відносної маси гіпофіза) та, можливо, зникає інгібуюча дія гормонів ШТ безпосередньо на рівні статевих залоз. Це викликає прискорення розвитку сім'яників та додаткових статевих залоз і посилення ензиматичної активності в сім'яниках. Отримані дані вносять ще одне додаткове розуміння механізму впливу гормонів ШТ на розвиток та функціонування статевих залоз і, зокрема, на стероїдогенез у сім'яниках.

Проведені нами дослідіаження вказують на можливий вплив мелатоніну та інших гормонів ШТ на синтез тестостерону (на етапах прегненолону, прогестерону й оксипрогестерону) як на ранніх, так і на пізніших етапах, де здійснює свою дію СДГ при перетворенні гідроеліандростерону в Δ^4 -андростендіон, який вже далі перетворюється в тестостерон.

Висновки. 1. Видалення шишкоподібного тіла збільшує активність стероїд- Δ^5 - 3β -ол-дегідрогенази в сім'яниках інфантильних шурів.

2. Через два тижні після пінеалектомії реєструється більш виражена активація стероїддегідрогеназної активності в сім'яниках шурів: до збільшеної сумарної стероїддегідрогеназної активності додається зростання загальної та питомої активності.

3. Пінеалектомія у самців інфантильних шурів через 14 днів після операції супроводжується значнішим, ніж через 7 днів, прискоренням розвитку статевих залоз (сім'яників, сім'яних пухирців, коагуляційних залоз та вентральної частки передміхурової залози) і збільшенням відносної маси гіпофіза.

Література. 1. Арушанян Э. Б. К фармакологии мелатонина // Эксперим. и клин. фармакол.– 1992.– Т.55, №5.– С.72–77. 2. Бондаренко Л. А. Современные представления о физиологии эпифиза // Нейрофизиология.– 1997.– Т.29, №3.– С.212–237. 3. Заморський І. І. Вплив руйнування латерального ядра перегородки мозку на фотоперіодичні зміни андрогенної функції сім'яників шурів // Ендокринологія.– 1998.– Т.3, №2.– С.156–162. 4. Колесникова Л. А. Об участии эпифиза в регуляции сезонной динамики тестостерона в крови белых крыс // Известия СО АН СССР. Сер. биол. наук. Вып.1.– 1984.– №6.– С.117–120. 5. Пишак В. П. Функциональные связи эпифиза и почек у позвоночных: Автореф. дис. ... докт. мед. наук.– Киев, 1984.– 25 с. 6. Резников А. Г., Тарасенко Л. В. Влияние электромагнитного поля промышленной частоты на андрогенную функцию семенников крыс // Физиол. ж.– 1981.– Т.27, №1.– С.121–124. 7. Ром-Бугославская Е. С. Антигонадотропные эффекты мелатонина // Эндокринология.– 1982.– Вып. 12.– С.55–60. 8. Тарасенко Л. В., Резников В. А., Михнев А. В. К вопросу о сезонных колебаниях андрогенной функции семенников крыс // Физиол. ж.– 1989.– Т.35, №2.– С.107–109. 9. Ekwall H., Jansson A., Sjoberg P. Differentiation of the rat testis between 20 and 120 days of age // Arch. Androl.– 1984.– Vol.13, N.1.– P.27–36. 10. Jarrige J. F., Jebbari K., Bouchen D. Influence of the pineal gland on testicular function in offspring of pinealectomized rats // J. Reprod. and Fert.– 1990.– Vol.89, N2.– P.415–421. 11. Johnson L. Y., Reiter R. J. The pineal gland and its effects on mammalian reproduction // Probl. reprod. Biol.– 1978.– Vol.4.– P.116–156. 12. Rommerts F., Molen van der H. Testicular steroidogenesis // The testis Burger H., de Krester D. (ed.).– New York: Raven Press, 1989.– P.303–328.

EFFECT OF PINEALECTOMY ON THE STEROIDOGENESIS IN THE TESTES OF INFANTILE RATS

I.I.Zamorskyi

Abstract. The effect of pinealectomy on the activity of steroid- Δ^5 - 3β -ol-dehydrogenase in the testes and the development of the gonadal glands of infantile rats aged 4–5 weeks after one and two weeks of observations has been evaluated. It has been found out that pinealectomy results in an increase of the activity of steroid- Δ^5 - 3β -ol-dehydrogenase and acceleration of the development of the gonadal glands. Moreover, the effect of pinealectomy is more evident in a fortnight than in a week.

Key words: pinealectomy, steroid- Δ^5 - 3β -ol-dehydrogenase, testes, infantile rats.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Buk. Med. Herald. – 2003. – Vol.7, №1, – P.189–193.

Надійшла до редакції 09.12.2002 року