

УДК 591.1:597.6

ТОЛЕРАНТНОСТЬ МЕРЦАТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ К НЕКОТОРЫМ КИСЛОТАМ

Нехороший А.А., Буриков А.А., Кутенко М.А.

ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону, e-mail: momigel@yandex.ru

В работе исследовано влияние 0,1% растворов соляной, фосфорной и уксусной кислот, а также электромагнитной стимуляции на устойчивость мерцательного эпителия пищевода лягушки озёрной. Показано, что мерцательный эпителий менее устойчив к уксусной кислоте и более устойчив к соляной и фосфорной кислотам. Электромагнитная стимуляция увеличивает толерантность мерцательного эпителия к этим кислотам.

Ключевые слова: мерцательный эпителий, кислотная устойчивость, пищевод, электромагнитная стимуляция, адаптация

TOLERANCE OF CILIARY EPITHELIUM TO SOME ACIDS

Nekhoroshiy A.A., Burikov A.A., Kutenko M.A.

Federal State-Owned Educational Establishment of Higher Vocational Education «Southern federal university», Rostov-on-Don, e-mail: momigel@yandex.ru

In the article, influence of 0,1% of solutions of hydrochloric, phosphoric and acetic acids, and also electromagnetic stimulations on stability of the rana ridibunda ciliary epithelium of the gullet is investigated. It is shown, that ciliary epithelium is less resistant to acetic acid and is more resistant to hydrochloric and phosphoric acids. Electromagnetic stimulation increases the tolerance of the ciliary epithelium to these acids.

Keywords: ciliary epithelium, acid stability, gullet, electromagnetic stimulation, adaptation

Проблема приспособления организма к окружающей его среде всегда была в центре внимания биологов и медиков различных специализаций. Адаптация организма к факторам среды может осуществляться как за счёт организменных (системных), так и за счёт клеточных механизмов. Живые организмы постоянно находятся под влиянием разнообразных физических и химических факторов как естественного, так и искусственного происхождения. Поэтому в этих условиях очень важно правильно оценить особенности реакции организма в целом, а также, что важно, резистентность клеток, а следовательно и тканей, в экстремальных условиях. Например, известно, что основная роль в адаптации морских моллюсков к колебаниям солёности принадлежит устойчивости именно клеток (Бергер, 1986; Филиппов и др., 2005; Филиппов, 2007).

Следует отметить, что существенным элементом устойчивости клеток к действию повреждающего агента является способность клеток бороться с последствиями этого воздействия. Этот динамический компонент устойчивости – противодействие повреждению – может проявляться как во время действия агента, так и после его прекращения (Арронет, 1963). Например, установлено, что растительные клетки способны репарировать тепловое повреждение, значительно превышающее то, которое необходимо для полной остановки движения их цитоплазмы. Кроме того, устойчивость протоплазмы к повреждению находится в связи с содержанием в клетках некоторых антиденатураторов. Указывается, например,

что в мышцах с пониженным содержанием аденозинтрифосфата (АТФ) и гликогена окоченение наступает более быстрее, нежели в мышцах, содержащих значительный запас этих веществ (Браун и др., 1959).

В ходе предыдущих исследований нами было установлено, что 0,1% концентрация соляной, фосфорной и уксусной кислот приводит к торможению мукоцилиарного транспорта пищевода лягушки, но после электромагнитной стимуляции в ряде случаев восстанавливалась активность мукоцилиарного транспорта (Буриков и др., 2009; Нехороший, 2010). Возможно, что электромагнитное излучение выступает в качестве своеобразного «антиденатуратора» или стимулирует активность разнообразных внутриклеточных антиденатураторов. Поэтому мы установили направление следующей серии экспериментов, целью которых явилось изучение устойчивости мерцательного эпителия пищевода лягушки озёрной (*Rana ridibunda*) по отношению к соляной, фосфорной и уксусной кислотам (с 0,1% концентрацией), а также исследование изменения кислотной устойчивости мерцательного эпителия при электромагнитной стимуляции.

Методы и материалы исследования

Исследование проведено на половозрелых лягушках озёрных (*Rana ridibunda*, Pallas, 1771) (обоих пола, массой 100-200 грамм). Озёрные лягушки отлавливались в реке Дон в окрестностях г. Ростова-на-Дону. Животные содержались в условиях вивария при температуре 20-25 °С в ваннах с дехлорированной водопроводной водой.

Испытуемых животных декапитировали, а затем обездвигивали разрушением центральной нервной

системы, которое было осуществлено следующим способом: тупая бранша ножниц вводилась между челюстями, остроконечная – располагалась позади глаз, отсекалась одним движением голова, и производилось окончательное разрушение центральной нервной системы введением в позвоночный канал круглого зонда. Расправляли конечности лягушки, клали ее на спину в ванночку, оттягивая пинцетом кожу в нижней части брюха и надрезая ее ножницами. Вводили в разрез тупую браншу ножниц, и оттягивая все время кожу кверху, чтобы не повредить нижележащие мышцы, делали разрез от заднего конца тела до ротового отверстия. В области передних конечностей производились поперечные разрезы кожи. Кожные лоскуты отворачивались в сторону и закалывались фиксирующими булавками.

Оттягивая кверху пинцетом мышечную стенку задней части живота, прорезали ее и, введя в разрез тупую браншу ножниц и все время приподнимая ею мышечную стенку (чтобы не повредить внутренние органы), проводили разрез вперед, в 3–4 мм сбоку от брюшной вены вплоть до начала ротовой полости. Особенно осторожно перерезался пояс передних конечностей, под которым лежит сердце с отходящими от него сосудами. Второй разрез проводили таким же образом, но с другой стороны от брюшной вены.

Пинцетом осторожно отводили мышечные стенки в стороны (при необходимости подрезая ножницами тонкие пленки, идущие к внутренним органам) и закалывали их булавками; брюшная вена оставалась на месте в мышечном лоскуте. Затем вводили одну браншу ножниц в пасть и разрезали по средней линии нижнюю челюсть и пищевод вплоть до желудка. Вырезали фрагмент ротоглоточной полости, пищевод и часть желудка (Коган и др., 1954).

Отпрепарированный пищевод лягушки разрезали на 8 фрагментов. Для их переживания *in vitro* использовали физиологический раствор. Из литературных источников известно, что мерцательный эпителий пищевода лягушки в физиологическом растворе способен функционировать в течении нескольких часов.

Тканевой материал перед опытом многократно промывали стерильной водой (вода для инъекций) с помощью одноразового шприца (на 2 мл).

Для изучения кислотной устойчивости мерцательного эпителия фрагменты пищевода орошали 0,1% растворами соляной, фосфорной и уксусной кислот. После химической обработки, фрагменты пищевода подвергали электромагнитной стимуляции (с частотами в 1, 5, 10 и 15 Гц). Кусочки пищевода микроскопировали с использованием микроскопа стереоскопического панкратического МСП-1 (Россия). Электромагнитную стимуляцию осуществляли с помощью магнитного стимулятора «Нейро-МС» (Россия), который предназначен для генерации электромагнитных импульсов высокой интенсивности. Регистрировали время наркотизации, т.е. время от начала орошения кислотой и электромагнитной стимуляции до полной остановки движения ресничек. Время прекращения активности мерцательного эпителия являлось критерием клеточной кислотной устойчивости.

Результаты оценки кислотной устойчивости мерцательного эпителия при химических и электромагнитных стимуляциях вносились в базы данных MS Office Excel 2007. Достоверность различий между группами оценивали по t-критерию Стьюдента (для независимых выборок) после проверки распределения на нормальность (Лакин, 1990).

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам нашего исследования время переживания мерцательного эпителия при действии 0,1% раствора соляной кислоты составило $55,9 \pm 3,23$ секунды (контроль). После электромагнитной стимуляции (ЭМС) с частотой в 1 Гц, время активности мерцательного движения достоверно увеличилось на 13% по сравнению с контролем. ЭМС с частотами в 5, 10 и 15 Гц приводила к достоверному увеличению активности на 31,8% ($p < 0,001$), на 42,6% ($p < 0,001$) и на 58,9% ($p < 0,001$) соответственно, в сравнении с контрольной группой.

Устойчивость мерцательного эпителия под влиянием 0,1% фосфорной кислоты (ФК) равна $50,4 \pm 3,81$ секундам. ЭМС с частотой в 1 Гц достоверно продлила устойчивость на 16,3% относительно контрольного показателя. ЭМС с частотами в 5, 10 и 15 Гц достоверно увеличила толерантность мерцательного эпителия по отношению к контрольному значению на 32,3% ($p < 0,05$), 47,2% ($p < 0,001$), 65,5% ($p < 0,001$) соответственно.

Кислотный наркоз мерцательного эпителия под влиянием 0,1% уксусной кислоты был равен $44,9 \pm 3,56$ секундам. Кислотная устойчивость мерцательного эпителия в условиях ЭМС в 1 Гц достоверно возрастала на 18,3%. ЭМС с частотой в 5 Гц приводила к увеличению устойчивости на 38,1% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. ЭМС с частотами в 10 и 15 Гц повышала устойчивость на 56,8 ($p < 0,001$) и 71% ($p < 0,001$) соответственно (в сравнении с уровнем контроля).

Выводы

В основе реакции клеток на действие кислот лежат денатурационные изменения клеточных белков, т.е. изменение их пространственной организации, а следовательно потеря функциональной активности. Из результатов видно, что клетки мерцательного эпителия оказались более устойчивыми к соляной кислоте и менее устойчивыми к уксусной кислоте, так как неорганические кислоты проникают в клетку медленнее, чем органические кислоты (Бреслер и др., 1981). Отсюда следует, что различия в кислотной устойчивости тканей должны быть обусловлены различной устойчивостью клеточных белков. Встает вопрос о роли в адаптации животных и человека к химическим условиям среды самых нижних уровней организации – клеточного и молекулярного, в частности, белкового.

Электромагнитная стимуляция (с повышением частоты) вызывает увеличение

продолжительности времени активности мерцательного эпителия, т.е. его устойчивость по отношению к 0,1% растворам соляной, фосфорной и уксусной кислот. Следовательно, электромагнитная стимуляция с крайне низкими частотами выступает в качестве антиденатуратора, возможно, стимулируя внутриклеточные процессы репарации на молекулярном уровне.

Список литературы

1. Арронет Н.И. Репарация теплового повреждения мерцательными клетками личинок некоторых брюхоногих моллюсков // Цитология. – 1963. – Т. 5, №2. – С. 222-227.
2. Бергер В.Я. Адаптации морских моллюсков к изменениям солёности среды. – Л.: Наука, 1986. – 214 с.
3. Браун А.Д., Несветаева Н.М., Фиженко Н.В. Об устойчивости актомиозина травяной и озёрной лягушек к денатурирующему действию тепла и спирта // Цитология. – 1959. – Т. 1, №1. – С. 86-93.
4. Бреслер В.М., Никифоров А.А. Транспорт органических кислот через плазматические мембраны дифференцированных эпителиальных слоёв у позвоночных. – Л.: Наука, 1981. – 203 с.
5. Буриков А.А., Кутенко М.А., Нехороший А.А. Возможность применения мерцательного эпителия в медицинском микробиороботостроении // Известия Южного федерального университета. Технические науки. – 2009. – №10. – С. 203-208.
6. Коган А.Б., Щитов С.И. Практикум по сравнительной физиологии. – М.: Советская наука, 1954. – 548 с.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
8. Нехороший А.А. Общая оценка мукоцилиарного транспорта пищевода лягушки озёрной в ситуации электромагнитной стимуляции после предварительной химической обработки // Биология-наука 21 века: материалы 14-й международной Пушкинской школы-конференции молодых учёных. – Пушкино, 2010. – Т.1. – С. 162.
9. Филиппов А.А. Адаптивные способности беломорских мидий *Mytilus edulis* (Bivalvia, Mytilidae) к изменению солёности среды обитания // Зоологический журнал. – 2007. – Т. 86, № 4. – С. 415-420.
10. Филиппов Н.А., Филиппов А.А. Динамика клеточной устойчивости мерцательного эпителия беломорских двустворчатых моллюсков *Macoma balthica* L. в ходе акклимации к пониженной солёности // материалы 6-й науч. сессии мор. биол. станции СПб. университета. – СПб., 2005. – С. 33-34.