

UNIwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Wydział Lekarski

Patryk Kownacki

Lecznicy wpływ greliny w gojeniu doświadczalnych uszkodzeń
błony śluzowej jamy ustnej

Praca doktorska

Promotor pracy doktorskiej: prof. dr hab. Artur Dembiński

Pracę wykonano w Katedrze Fizjologii Uniwersytetu Jagiellońskiego
Collegium Medicum

Kierownik Katedry: prof. dr hab. Wiesław W. Pawlik

Pragnę serdecznie podziękować Panu Profesorowi Arturowi Dembińskiemu, promotorowi mojej pracy doktorskiej, za poświęcony mi czas, cenne rady i pomoc w planowaniu badań, a także za zapoznanie z warsztatem pracy badawczej, co umożliwiło mi napisanie niniejszej pracy.

Bardzo dziękuję Panu Profesorowi Wiesławowi W. Pawlikowi za umożliwienie przeprowadzenia badań w kierowanej przez Niego Katedrze Fizjologii CMUJ.

Dziękuję też Pani Profesor Romanie Tomaszewskiej za przeprowadzenie oceny morfologicznej preparatów histologicznych w Katedrze Patomorfologii CMUJ.

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	5
1.1. Odnowa błony śluzowej jamy ustnej	5
1.2. Rola śliny w ochronie jamy ustnej	7
1.2. Uszkodzenia błony śluzowej jamy ustnej	12
1.3. Grelina i poznane efekty jej działania	14
2. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY	16
3. MATERIAŁ I METODY	17
3.1. Grupy zwierząt i procedury eksperymentalne	17
3.1.1. Usunięcie ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych	18
3.1.2. Usunięcie przysadki mózgowej	20
3.1.3. Operacje pozorowane	21
3.1.4. Wywoływanie przewlekłych uszkodzeń błony śluzowej dziąsła i języka	21
3.1.5. Pomiar przepływu krwi przez błonę śluzową dziąsła i języka	23
3.1.6. Pomiar wielkości wrzodów błony śluzowej dziąsła i języka	23
3.2. Oznaczenia biochemiczne	24
3.2.1. Określenie syntezy DNA w błonie śluzowej dziąsła i języka	24
3.2.2. Oznaczenie stężenia interleukiny-1 β w surowicy i błonie śluzowej dziąsła i języka	25
3.2.3. Oznaczenie stężenia greliny, hormonu wzrostu i IGF-1 w surowicy	25
3.2.4. Ocena makroskopowa i histologiczna stanu błony śluzowej jamy ustnej	26
3.5. Analiza statystyczna	26
4. WYNIKI BADAŃ	27
4.1. Wpływ podawania greliny na gojenie przewlekłych wrzodów błony śluzowej jamy ustnej	27
4.1.1. Wpływ podawania greliny na gojenie przewlekłych wrzodów błony śluzowej dziąsła	27
4.1.2. Wpływ podawania greliny na gojenie przewlekłych wrzodów błony śluzowej języka	36

4.2. Wpływ podawania greliny na przepływ krwi w błonie śluzowej jamy ustnej	42
4.2.1. Wpływ podawania greliny na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła	42
4.2.2. Wpływ podawania greliny na przepływ krwi w błonie śluzowej języka	59
4.3. Wpływ podawania greliny na syntezę DNA w błonie śluzowej jamy ustnej	71
4.3.1. Wpływ podawania greliny na syntezę DNA w błonie śluzowej dziąsła	71
4.3.2. Wpływ podawania greliny na syntezę DNA w błonie śluzowej języka	75
4.4. Wpływ podawania greliny na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β	78
4.4.1. Wpływ podawania greliny na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w surowicy	78
4.4.2. Wpływ podawania greliny na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła	79
4.4.3. Wpływ podawania greliny na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej języka	82
4.5. Wpływ podawania greliny na stężenie greliny w surowicy	85
4.6. Wpływ podawania greliny na stężenie hormonu wzrostu w surowicy	88
4.7. Wpływ podawania greliny na stężenie IGF-1 w surowicy	90
4.8. Wpływ podawania greliny na stan błony śluzowej jamy ustnej w ocenie makroskopowej i histologicznej	92
5. DYSKUSJA	93
6. WNIOSKI	103
7. STRESZCZENIE	104
8. SUMMARY	106
9. PIŚMIENNICTWO	108

1. WSTĘP

1.1. Odnowa błony śluzowej jamy ustnej

Jama ustna jest narządem, w którym błona śluzowa jest narażona na ustawiczne różnorakie urazy o charakterze mechanicznym, chemicznym, cieplnym, jak też ekspozycję na czynniki o charakterze infekcyjnym. W warunkach fizjologicznych w ramach procesu żucia dochodzi do drobnych urazów, co powoduje, że w preparatach histologicznych prawidłowego dziąsła, prawie zawsze obserwuje się tzw. fizjologiczne nacieczenie zapalne (Jańczuk, 1981).

Warunkiem utrzymania integralności błony śluzowej jamy ustnej jest utrzymanie równowagi dynamicznej pomiędzy utratą komórkową, a odnową komórkową w obrębie tej błony. Komórki powstają na drodze mitozy w części podstawnej błony śluzowej i następnie przemieszczane są do warstw powierzchniowych, gdzie podlegają złuszczeniu. Stan równowagi dynamicznej opiera się na zasadzie sprzężeń ujemnych. W warunkach prawidłowych zwiększona utrata komórkowa prowadzi do zwiększonej odnowy komórkowej. Natomiast zmniejszona utrata komórkowa prowadzi do zahamowania podziałów komórkowych. W patologii może dochodzić do zaburzenia równowagi pomiędzy tymi procesami. Z jednej strony może mieć miejsce zmniejszenie grubości błony śluzowej na skutek zwiększonego złuszczenia lub zmniejszenia ilości podziałów komórkowych w warstwie podstawnej błony śluzowej. Stan taki prowadzi do atrofii błony śluzowej i zwiększonej możliwości rozwoju uszkodzeń tej błony. Odwrotnością tego zjawiska mogą być przerosty błony śluzowej będące przede wszystkim następstwem wzmożonej proliferacji komórkowej w jej obrębie.

Nabłonek pokrywający błonę śluzową jamy ustnej można podzielić na dwie grupy: na nabłonek rogowaciejący i nierogowaciejący. W obrębie jamy ustnej nabłonek rogowaciejący pokrywa dziąsła i podniebienie twarde. Natomiast nabłonek nierogowaciejący pokrywa wewnętrzną powierzchnię policzków i tkanki podniebienia miękkiego (Presland i Jurevic, 2002). Strukturalnie i funkcjonalnie niezależnie od typu nabłonka można na przekroju błony śluzowej jamy ustnej wyróżnić dwa przedziały. Leżący u podstawy przedział rozrodczy składający się z komórek podlegających podziałom komórkowym oraz leżących powyżej przedział czynnościowy, w którym komórki podlegają dojrzewaniu, a następnie złuszczeniu.

Leżąca u podstawy błony śluzowej strefa odnowy składa się z komórek leżących na błonie podstawnej. Komórki te dzielą się mitotycznie, a powstające komórki potomne przemieszczane są do strefy czynnościowej, gdzie podlegają różnicowaniu i dojrzewaniu. Cykl życiowy komórek strefy odnowy dzieli się na cztery fazy. Fazę G_1 , będąca okresem pomiędzy powstaniem komórki w wyniku mitozy, a ponownym pobudzeniem syntezy DNA. Fazę S, podczas której dochodzi do syntezy DNA. Fazę G_2 , która jest okresem przejściowym pomiędzy syntezą DNA, a rozpoczęciem mitozy. Oraz fazę M w czasie, której zachodzi mitoz (Hamilton i Blackwood, 1974).

Organizacja morfologiczna przedziału czynnościowego błony śluzowej zależy od tego, czy jest to nabłonek rogowaciejący, czy też nierogowaciejący. W przypadku nabłonka rogowaciejącego w ramach przedziału czynnościowego można wyróżnić, idąc od podstawnej, trzy strefy: strefę komórek kolczastych, następnie strefę komórek ziarnistych i na końcu strefę komórek zrogowaciałych (Hamilton i Blackwood, 1974). W tej ostatniej strefie komórki są martwe wypełnione keratyną oraz pozbawione jąder i innych organelli komórkowych. Strefa ta podlega złuszczeniu. Natomiast w przypadku nabłonka nierogowaciejącego, w ramach przedziału czynnościowego wyróżnia się, idąc od części przypodstawnej, strefę komórek pośrednich i strefę komórek powierzchniowych. Błona śluzowa pokryta nabłonkiem rogowaciejącym charakteryzuje się większą odpornością na urazy dzięki obecności zrogowaciałych komórek, które oddzielają głębiej leżące komórki od bezpośredniego narażenia na czynniki uszkodzające. W przypadku błony śluzowej pokrytej nabłonkiem nierogowaciejącym, wrażliwość na urazy jest znacznie większa.

Pierwotnie dynamikę odnowy komórkowej oceniano poprzez liczenie figur podziałów komórkowych przy zastosowaniu i bez zastosowania kolchicyny. Nie była to jednak metoda zbyt miarodajna, i dlatego też przed rokiem 1960 uważano, że czas odnowy komórkowej błony śluzowej jamy ustnej zawiera się pomiędzy 16, a 24 dniami (Cutright i Bauer, 1967). Znaczny postęp w możliwościach oceny czasu odnowy komórkowej został uzyskany po wprowadzeniu do badań znakowanej izotopowo tymidyny. Korzystając z metody autoradiograficznej oceniającej wbudowywanie znakowanej tymidyny do komórek błony śluzowej, Cutright i Bauer (1967) stwierdzili w badaniach na szczurach, że czas odnowy komórkowej błony śluzowej jamy ustnej zawiera się pomiędzy 3,2 a 5,8 dnia w zależności od rejonu, z jakiego ta błona śluzowa została pobrana. W ich badaniach najkrótszym czasem odnowy komórkowej cechowała się błona śluzowa tylnej górnej powierzchni języka, w której wynosił on 3,2 dnia. W

przedniej części górnej powierzchni języka czas odnowy błony śluzowej wynosił 3,5 dnia. Odnowa komórkowa błony śluzowej dziąsła pokrywającego zęby odbywała się w ciągu 5,6, natomiast odnowa błony śluzowej podniebienia twardego zachodziła w ciągu 4,3 dnia.

Poprawność tych badań została potwierdzona przez Hamiltona i Blackwooda (1974), którzy uzyskali podobne wyniki. W badaniach przeprowadzonych na szczurach, czas odnowy komórkowej dla błony śluzowej podniebienia twardego określili na 6-7 dni. Dla błony śluzowej podniebienia miękkiego odnowa komórkowa trwała od 3,5 do 4,5 dnia, dla policzka 3,5 do 5,5, dla górnej powierzchni języka 4 do 6 dni, dla dolnej powierzchni języka 3 do 4,5 dnia, a dla dziąsła pokrywającego zęby 4,5 do 5,5 dnia. Ponadto Hamiltona i Blackwooda (1974) stwierdzili, że czas cyklu komórkowego komórek warstwy reprodukcyjnej mieści się pomiędzy 24, a 48 godzinami. Dłuższy 48 godzinny cykl komórkowy jest charakterystyczny dla błony śluzowej podniebienia twardego i ustnej części dziąsła, natomiast krótszy, 24 godzinny cykl komórkowy jest typowy dla błony śluzowej podniebienia miękkiego, policzków, języka i dziąsła pokrywającego zęby.

Również badania przeprowadzone u ludzi wykazały podobny czas trwania odnowy błony śluzowej jamy ustnej. Gillespie, w badaniach opublikowanych w 1969 roku, wykazał, w komórkach warstwy reprodukcyjnej błony śluzowej, obecność tymidyny znakowanej trytem już po 30 min od jej podania. Ponadto stwierdził, że czas migracji komórek z warstwy reprodukcyjnej do części szczytowej przedziału czynnościowego błony śluzowej trwa około pięciu dni.

1.2. Rola śliny w ochronie jamy ustnej

Wśród mechanizmów ochronnych mających ograniczać rozwój uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej i przyspieszać regenerację tej błony kluczową rolę ogrywa produkcja śliny. Ślina poprzez obecności śluzu umożliwia zlepianie pokarmu w postaci kęsa pokarmowego, a także pokrywając powierzchnię kęsa pokarmowego, dzięki swoim własnościom poślizgowym, zapobiega uszkodzeniom mechanicznym błony śluzowej jamy ustnej i dalszych odcinków przewodu pokarmowego. Funkcja ochronna śliny wiąże się też z rozpuszczaniem i wypłukiwaniem resztek pokarmowych oraz hamowaniem rozwoju organizmów patogennych, dzięki obecności białek o właściwościach bakterio-

grzybobójczym oraz alkalizacji środowiska jamy ustnej. Ponadto ślina nawilża narządy jamy ustnej zapobiegając ich wysychaniu i uszkodzeniu.

Ślina jest wytwarzana przede wszystkim przez główne gruczoły ślinowe, do których zaliczamy trzy pary ślinianek: przyuszne, podżuchwowe i podjęzykowe. W nich też powstaje około 90% śliny. Pozostałe 10% śliny jest wytwarzane przez mniejsze ślinianki, które są rozsiane w obrębie błony śluzowej jamy ustnej i języka.

Ślina jest wydzielana w sposób ciągły, ale w różnej objętości w zależności od stanu organizmu, przede wszystkim w zależności od aktywności trawiennej. Minimalne wydzielanie występuje podczas snu i u ludzi powstaje wówczas w ciągu minuty około 0,1 ml śliny. W warunkach podstawowych, w okresie międzytrawiennym, wydzielanie śliny wynosi około 0,32 ml/min., podczas gdy po pobudzeniu wydzielniczym objętość powstającej śliny wzrasta do 4-5 ml/min. Średnio w ciągu doby powstaje około 0,5-1 litra śliny (Heft i Baum, 1984; Watanabe i Dawes, 1988a, b).

Ślina w ponad 99% składa się z wody, niecały 1% stanowią składniki stałe, z czego 1/3 to elektrolity, a pozostałe 2/3 to składniki organiczne, głównie białka (Nauntofte i Jensen, 1999). Objętość śliny, zawartość elektrolitów i składników organicznych oraz jej osmolarność wzrastają po pobudzeniu wydzielniczym. Zgodnie z koncepcją Thaysen'a (Thaysen i inni, 1954) produkcja śliny odbywa się w dwóch etapach. W pierwszym etapie powstaje w pęcherzykach wydzielniczych ślina o składzie elektrolitowym zbliżonym do składu osocza. Drugi etap zachodzi w obrębie kanalików i przewodów wyprowadzających, gdzie zachodzi wchłanianie kationów sodowych i anionów chlorkowych oraz wydzielanie kationów potasowych i anionów wodorowęglanowych. Przy słabym pobudzeniu, kiedy powstaje mało śliny pierwotnej, czas przebywania śliny w kanalikach jest wystarczająco długi, aby doszło do znacznej resorpcji jonów sodowych i chlorkowych, co przy braku wchłaniania wody powoduje, że powstająca ślina jest hypoosmotyczna. Natomiast w przypadku silnego pobudzenia wydzielania śliny powstaje duża objętość śliny pierwotnej i okres jej kontaktu z komórkami kanalików ulega skróceniu, co powoduje wzrost stężenia jonów sodowych i chlorkowych w ślinie ostatecznej. Wzrasta również stężenie anionów wodorowęglanowych. Jony te dostają się do śliny ostatecznej przy udziale wymiennika $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ i wzrost stężenia anionów chlorkowych pozwala na wzrost stężenia anionów wodorowęglanowych (Konturek, 2000).

Spośród jonów znajdujących się w ślinie najważniejszą rolę pełnią kationy sodowe i aniony wodorowęglanowe, które wspólnie warunkują wartość ciśnienia osmotycznego

śliny. Dodatkowo jony wodorowęglanowe są odpowiedzialne za nadanie ślinie alkalicznego pH. Stężenie kationów sodowych w ślinie ostatecznej w warunkach podstawowych wynosi około 10 mmol/l, po pobudzeniu maksymalnie ich stężenie do około 100 mmol/l. Natomiast stężenie HCO_3^- wynoszące w warunkach podstawowych 5 mmol/l może wzrosnąć do wartości 40-60 mmol/l. Stężenie kationów potasowych w warunkach podstawowych jest dość wysokie osiągając wartość ok. 10-20 mmol/l, po pobudzeniu maleje osiągając wartości zbliżone do wartości obserwowanych w osoczu (5 mmol/l). Także wydzielanie anionów chlorkowych jest zależne od stopnia pobudzenia wydzielania śliny, w warunkach podstawowych ich stężenie wynosi około 15-25 mmol/l aby wzrosnąć, po pobudzeniu, do wartości około 40-60 mmol/l. (Konturek, 2000). W ślinie ostatecznej znajdują się też jony wapniowe, magnezowe, fluorkowe, fosforanowe i jodkowe. Obecność jonów wapniowych i fosforanowych zapobiega rozpuszczaniu szkliwa zębów i sprzyja jego remineralizacji. Stężenie jonów jodkowych w ślinie przekracza stężenie tych jonów w osoczu ze względu na zdolność ślinianek do czynnego wydzielania jonów jodkowych do śliny.

Dwie trzecie składników stałych stanowią składniki organiczne, wśród których największą grupę stanowią białka. W jednym mililitrze śliny jest ich około 2 mg. Głównym białkiem enzymatycznym obecnym w ślinie jest α -amylaza ślinowa trawiąca wiązania α -1,4 glikozydowe skrobi. Innym enzymem trawiennym obecnym w niewielkiej ilości w ślinie jest lipaza ślinowa wykazująca zdolność do rozkładu trójglicerydów. Produkowana jest przez ślinianki językowe (gruczoły von Ebner'a) (Roberts i Jaffe, 1986). Wydaje się, że nie odgrywa ona jednak większej roli w warunkach fizjologicznych u dorosłych ludzi, natomiast u noworodków razem z lipazą żołądkową pełni zasadniczą rolę w trawieniu tłuszczów zawartych w mleku. Znaczenie lipazy ślinowej też u ludzi dorosłych w przypadku niewydolności enzymatycznej trzustki (Hamosh, 1990).

Bardzo ważną rolę w ślinie pełnią mucyny, które stanowią główny składnik śluzu produkowanego przez ślinianki. Mucyny należą do glikoprotein i w ponad 50% składają się z wodorowęglanów. Mucyny dzięki swoim właściwościom zlepny i poślizgowym chronią błonę śluzową i zęby przed uszkodzeniami mechanicznymi oraz umożliwiają tworzenie kęsa pokarmowego. Ponadto, mucyny poprzez zlepianie się z mikroorganizmami zapobiegają ich przyleganiu do powierzchni zębów i błon śluzowych, co chroni przed rozwojem zakażenia (Nauntofte i Jensen, 1999).

Wśród obecnych w ślinie białek o właściwościach przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych należy wymienić histatyny, lizozym, laktoferynę, laktoperoksydazę, a także immunoglobuliny wydzielnicze klasy A (IgA).

Histatyny uzyskały swoją nazwę ze względu na wysoką zawartość histydyny oraz właściwości bakteriostatyczne oraz grzybobójcze. Wykazano m.in. ich zdolność do hamowania wzrostu i zabijania paciorkowców (MacKay i inni, 1984) oraz grzybów z rodzaju *Candida albicans* (Oppenheim i inni, 1988; Xu i inni, 1991).

Lizozym jest białkiem kationowym o właściwościach enzymatycznych. Wywiera działanie przeciwbakteryjne poprzez rozkład ściany komórkowej bakterii. Działanie enzymatyczne lizozymu polega na rozrywaniu wiązań β -1,4-glikozydowych pomiędzy cząsteczkami kwasu N-acetylmuraminowego i N-glukozaminą (Salton, 1957).

Laktoferyna jest białkiem należącym do rodziny tranferyn, które są glikoproteinami wiążącymi żelazo. Produkowana jest przez komórki gruczołowe pochodzenia nabłonkowego, jak też neutrofile, które uwalniają ją w miejscu zakażenia. Obecność laktoferyny stwierdzono m.in. w sianie, mleku, łzach i ślinie. Laktoferyna ma zdolność do usuwania wolnych rodników, jak też hamuje wzrost grzybów i efekt ten wykazano m.in. w przypadku *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* oraz *Phoma exigua* (Lahoz i inni, 2008). Laktoferyna ma też działania przeciwwirusowe, hamując wnikanie wirusów do komórek. Efekt ten wykazano m.in. dla wirusa opryszczki, adenowirusów, rotawirusów, wirusów polio oraz wirusów brodawczaka ludzkiego (human papillomavirus –HPV) (Drobni i inni, 2004)

O istotnym znaczeniu, zawartych w ślinie czynników przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych, w zapobieganiu infekcjom jamy ustnej świadczy fakt, że choroby przyzębia są powiązane ze statystycznie znamionym obniżeniem stężenia tych czynników (Ito i inni, 2008).

Ważną też rolę w ślinie ogrywiają też czynniki zapobiegające wytrącaniu fosforanów wapnia w przewodach wyprowadzających ślinianek i tworzeniu w nich kamieni. Obecność tych czynników umożliwia osiągnięcie w ślinie wysokiego stężenia jonów wapnia i fosforanów, co chroni przed demineralizacją zębów. Do czynników tych zalicza się między innymi staterinę, białka bogate w prolinę i cystatyny (Hay i inni, 1982, 1984; Lamkin i Oppenheim, 1993). Cystatyny hamują też proteazy cysteinowe, co chroni białka zawarte w ślinie przez ich proteolizę (Lamkin i Oppenheim, 1993).

W ślinie stwierdzono również obecność kalikreiny odpowiedzialnej za powstawanie bradykininy. Ta ostatnia zwiększa lokalnie przepływ krwi, co prowadzi m.in. do wzrostu produkcji śliny (Nauntofte i Jensen, 1999).

Bardzo istotnym składnikiem śliny jest epidermalny czynnik wzrostowy (Epidermal Growth Factor - EGF). EGF jest 53 aminokwasowym polipeptydem, należącym do cytokin, czyli substancji o charakterze hormonalnym produkowanych przez komórki somatyczne (Soler i Carpenter, 1997). Na komórki docelowe EGF działa poprzez receptory błonowe, w których przekazywanie sygnału odbywa się poprzez aktywację kinazy tyrozynowej (Walker i Burgess, 1997). EGF należy do rodziny czynników wzrostowych (Soler i Carpenter, 1997). Pierwotnie EGF został wyizolowany w mysich śliniakach; ślinianki są też głównym źródłem EGF w przewodzie pokarmowym (Cohen, 1962). Poza śliniankami, w obrębie przewodu pokarmowego obecność EGF stwierdzono w soku żołądkowym, jelitowym i trzustkowym oraz moczu (Konturek i inni, 1989). Badania przeprowadzone na zwierzętach, jak i u ludzi wykazały, że EGF pobudza proliferację, różnicowanie i dojrzewanie komórek przewodu pokarmowego (Playford i inni, 1996). Pobudzając odnowę błony śluzowej zapobiega powstawaniu jej uszkodzeń (Itoh i inni, 1988; Konturek i inni, 1990), jak też przyspiesza gojenie tych uszkodzeń (Konturek i inni, 1988; 1990; Akbulut i inni, 2002). Badania kliniczne wykazały skuteczność doustnego podawania EGF w leczeniu wrzodów żołądka (Itoh i inni, 1994) i dwunastnicy (Palomino i inni, 2000). Ponadto badania eksperymentalne (Konturek, 1996; Brzozowski, 1996) i kliniczne (Abe, 1997; Coyle, 1999; Wong, 2001) sugerują, że w przypadku uszkodzenia błony śluzowej żołądka dochodzi do wzrostu ekspresji receptora dla EGF, podczas gdy po ustąpieniu czynnika sprzyjającego uszkodzeniom błony śluzowej i wyleczeniu tych uszkodzeń, ekspresja receptora EGF ulega normalizacji. Wykazano też istotne znaczenie EGF w utrzymaniu integralności błony śluzowej jamy ustnej. Morris-Wiman i inni (2000) w badaniach na szczurach stwierdzili, że usunięcie ślinianek powoduje u tych zwierząt zanik kubków smakowych w obrębie brodawek grzybowatych języka, podczas gdy podawanie egzogenego EGF odwracało te zmiany.

Należy jednak zaznaczyć, że stężenie EGF w ślinie ludzi jest znacznie niższe niż u gryzoni (Thesleff i inni, 1988; Nexø i inni, 1984). W świetle ostatnich badań wydaje się, że u ludzi głównymi, zawartymi w ślinie czynnikami pobudzającymi gojenie uszkodzeń jamy ustnej są histatyny, które oprócz znanego wcześniej działania przeciwbakteryjnego i przeciwgrzybiczego, pobudzają też procesy naprawcze błony śluzowej. Dotyczy to szczególnie histatyny 1 i histatyny 2 (Oudhoff i inni, 2008).

1.3. Uszkodzenia błony śluzowej jamy ustnej

Zapalenia i uszkodzenia błony śluzowej jamy ustnej mogą być wywołane przez infekcje bakteryjne, wirusowe lub grzybicze. Pierwotną przyczyną uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej mogą być też urazy mechaniczne, chemiczne, termiczne, czy też promieniowanie jonizujące; ponadto niedobory witamin, żelaza i uczulenia, choroby układowe i nieprawidłowości funkcjonowania układu immunologicznego. Często etiologia ma charakter mieszany powikłany wtórnymi infekcjami. W leczeniu stanów zapalnych i uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej obowiązuje, tak jak w przypadku innych schorzeń, zasada leczenia przyczynowego. Nie zawsze jednak takie leczenie jest możliwe.

Infekcjom i uszkodzeniom błony śluzowej jamy ustnej sprzyja zmniejszenia wydzielania śliny, prowadzące do suchości jamy ustnej, czyli kserostomii prawdziwej. Pacjenci cierpiący na kserostomię uskarżają się na uczucie zasychania i pieczenia w jamie ustnej i gardle, utrudnienie połykania pokarmów suchych. Kserostomię prawdziwą dzieli się na dwa klinicznie typy (Jańczuk, 1981). W pierwszym typie, oprócz kserostomii i pieczenia jamy ustnej i gardła nie spostrzega się innych objawów. W drugim typie klinicznym kserostomii dochodzi do zmian zanikowych błony śluzowej jamy ustnej. Fizykalnie stwierdza się scieńczałą, podsuchającą i zaczerwienioną błonę śluzową jamy ustnej, zanik brodawek liściastych na języku. Dochodzi do uszkodzeń i rozwoju stanów zapalnych błony śluzowej jamy ustnej i gardła, występują też stany zapalne przyzębia i inne problemy stomatologiczne. Drugi typ kliniczny kserostomii prawdziwej jest wynikiem rozwoju stanów chorobowych w śliniankach (głównie przyusznych) określanych jako sialozy (sialosis). Zmiany te polegają na zaniku i zwyrodnieniu mięszu wydzielniczego ślinianek oraz na proliferacji nabłonka cylindrycznego przewodów wyprowadzających (Jańczuk, 1981).

Istotną przyczyną kserostomii prawdziwej typu drugiego jest zespół Sjögrena. Zespół ten jest przewlekłą, postępującą chorobą o podłożu autoimmunologicznym, manifestującą się klinicznie przede wszystkim suchością jamy ustnej i oczu. Dodatkowo około jednej trzeciej chorych występują objawy ze strony innych narządów. Często, bo aż u ponad 5% chorych z zespołem Sjögrena może dojść do rozwoju złośliwego chłoniaka (Klussmann i inni, 1999; Tonami i inni, 2003), co prawdopodobnie związane z

faktem, że w patogenezie choroby może odgrywać rolę infekcja wirusowa m.in. wirusem Epstein-Barra, nałożona na pewne predyspozycje genetyczne (zwiększona częstość występowania antygenów HLA-B8, -DR3 i -DRw53) (Moutsopoulos i inni, 1999). Prawdopodobieństwo rozwoju chłoniaków u chorych z zespołem Sjögrena jest 44 razy większe niż w populacji ogólnej (Kucharz E, 1995). Zapadalność na pierwotny zespół Sjögrena wynosi aż 0,5-1% populacji. Ponadto aż u 30% chorych na układowe schorzenia tkanki łącznej występują objawy wtórnego zespołu Sjögrena. Zespół Sjögrena stanowi, więc poważny problem leczniczy.

Klinicznie u większości chorych z zespołem Sjögrena występują objawy będące następstwem osłabienia czynności wydzielniczej gruczołów ślinowych i łzowych. Zmianom tym towarzyszą uszkodzenia błony śluzowej jamy ustnej i gardła, jej stany zapalne oraz stany zapalne przyzębia.

Zespół Sjögrena jest chorobą, w której nie dopracowano się skutecznego leczenia przyczynowego. Leczenie sprowadza się do leczenia objawowego mającego na celu zapobieganie i/lub zmniejszanie uszkodzeń miejscowych wywołanych przewlekłą suchością błony śluzowej jamy ustnej i spojówek oka. W przypadku suchości spojówek oka sprowadza się ono do podawania preparatów zawierających roztwór metylocelulozy celem uzupełnienia niedoboru łez (Moutsopoulos i inni, 1999). W badaniach klinicznych, w ocznej manifestacji zespołu Sjögrena, stosowano też z dobrym skutkiem podawanie roztworów zawierających osocze pacjentów wraz z zawartymi w nich czynnikami wzrostowymi i mikroelementami (Tsubota i inni, 1999). W przypadku dolegliwości ze strony jamy ustnej zaleca się częste picie i płukanie jamy ustnej. Zaleca się też dbanie o stan higieny uzębienia. W przypadkach, kiedy ślinianki są w stanie produkować choćby minimalne ilości śliny zaleca się stosowanie pilokarpiny zwiększającej tę produkcję (Moutsopoulos i inni, 1999). Skuteczność tych metod jest jednak ograniczona, stąd też poszukiwanie nowych bezpiecznych środków mogących poprawić efekty lecznicze.

Ważnym objawem zespołu Sjögrena, tak jak wszystkich przypadków kserostomii prawdziwej drugiego typu są zmiany zanikowe błony śluzowej jamy ustnej. Wydaje się, że jest to wynik niedoboru w jamie ustnej czynników wzrostowych, w tym EGF. W zespole Sjögrena, dochodzi do radykalnego zmniejszenia objętości produkowanej śliny, a ponadto w badaniach klinicznych stwierdzono, że w tym zespole spada też stężenia EGF w wydzielinach błon śluzowych. Wykazano też ścisłą zależność pomiędzy stopniem obniżenia stężenia EGF we łzach, a stopniem uszkodzenia narządu wzroku (Pflugfelder i

inni, 1999). Opierając się na tych obserwacjach, nasuwa się wniosek, że w terapii, obserwowanych w zespole Sjögrena zmian zanikowych błony śluzowej jamy ustnej, może być skuteczne podawanie egzogenego EGF. Jednakże zastosowanie tego czynnika wzrostowego może wiązać się z poważnym zagrożeniem wystąpienia rozwoju nowotworów. Wykazano, że rozwój nowotworów, w tym nowotworów jamy ustnej jest związany ze wzrostem ekspresji receptora dla EGF (Game et al., 1990). W przypadku nowotworów pochodzenia nabłonkowego, aż w 1/3 przypadków stwierdza się zwiększoną ekspresję receptorów EGF, co wiąże się ze złym rokowaniem dla pacjenta (Ozanne i inni, 1986). W ostatnich latach przeprowadzono też obiecujące badania kliniczne z zastosowaniem blokerów receptorów EGF w leczeniu nowotworów (Mendelssohn, 2002; Grünwald i Hidalgo, 2003), co dodatkowo wskazuje na zależność pomiędzy EGF, a karcinogenezą.

Z tego też powodu, wskazane byłoby zastosowanie środka, który pobudzałby odnowę błony śluzowej jamy ustnej, natomiast nie powodowałby zagrożenia rozwojem choroby nowotworowej. W świetle aktualnej wiedzy, takim środkiem mogłaby być grelina.

1.3. Grelina i poznane efekty jej działania

Grelina jest 28 aminokwasowym peptydem wyizolowanym pierwotnie w błonie śluzowej żołądka (Kojima i inni 1999; Ariyasu i inni 2001). Żołądek jest też głównym źródłem endogennej greliny, jakkolwiek stwierdzono jej obecność również w obrębie ślinianek (Gröschl i inni, 2005), zębów (Aydin i inni, 2007), jelit, trzustki, nerek, przysadki i podwzgórza (Kojima i inni, 1999; Peeters, 2005). Grelina jest naturalnym ligandem dla receptora GHS-R (growth hormone secretagogue receptor) (Kojima i inni, 1999). Receptor ten występuje głównie w przysadce i podwzgórzu, ale w niewielkim stopniu występuje również w innych narządach (Peeters, 2005). Działając na GHS-R grelina silnie i dawkozależnie pobudza wydzielanie hormonu wzrostu z przedniej części przysadki (Kojima i inni, 1999). Poza wpływem na uwalnianie hormonu wzrostu, grelina pobudza też wydzielanie hormonu adrenokortykotropowego (ACTH), kortykosteronu i prolaktyny (Peeters, 2005; Broglio i inni 2003). Grelina zwiększa też przyjmowanie pokarmu i odkładanie tłuszczu u dorosłych zwierząt (Wren i inni, 2001a) i ludzi (Wren i inni, 2001b). Pobudzający wpływ greliny na apetyt jest wynikiem wpływu tego peptydu

na podwzgórzowe neurony uwalniające między innymi neuropeptyd Y (NPY) i oreksynę (Peeters, 2005; Toshinai i inni, 2003). Stężenie greliny w osoczu na czczo jest odwrotnie proporcjonalne do wskaźnika masy ciała (Shiia i inni, 2002). Uważa się, że grelina wpływa nie tylko na krótkotrwałą regulację przyjmowania pokarmu, ale również odgrywa rolę w mechanizmach długoterminowych Cummings i Shannon, 2003). Grelina wpływa na wzrost narządów przewodu pokarmowego i przyrost masy ciała, i wpływ ten jest zależny od wieku. U ssących szczurów podawanie greliny hamuje wzrost żołądka (Warzecha i inni, 2006) i trzustki (Dembiński i inni, 2005a) pozostając bez wpływu na przyrost masy ciała. Natomiast u zwierząt w okresie dojrzewania podawanie greliny pobudza przyjmowanie pokarmu oraz wzrost masy ciała, trzustki i błony śluzowej żołądka (Warzecha i inni, 2006; Dembiński i inni 2005a).

Wcześniejsze badania wykazały, że podanie greliny chroni serce (Frascarelli i inni, 2003), nerki (Takeda i inni, 2006) i mózg (Liu i inni, 2006) przed uszkodzeniami wywołanymi niedotlenieniem, jak też grelina zmniejsza uszkodzenia płuc i śmiertelność w przebiegu uogólnionego zakażenia (Wu i inni, 2007). W obrębie przewodu pokarmowego podanie greliny hamuje rozwój uszkodzeń błony śluzowej żołądka wywołanych etanolem (Sibilia i inni, 2003; Konturek i inni, 2004), stresem (Brzozowski i inni, 2004) i alendronianem (Iseri i inni, 2005). Ponadto podanie greliny hamuje rozwój ostrego zapalenia trzustki wywołanego ceruleiną (Dembiński i inni, 2003) i niedotlenieniem z następującą reperfuzją (Dembiński i inni, 2006a). Wykazano też, że podawanie greliny przyspiesza gojenie przewlekłych wrzodów żołądka i dwunastnicy (Dembiński i inni, 2006b; 2007).

Powyższe obserwacje sugerują, że również w przypadku jamy ustnej grelina może wykazywać działanie lecznicze w gojeniu uszkodzeń błony śluzowej. Dlatego też zbadanie tego problemu stało się przedmiotem mojej pracy.

2. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY

Wcześniej przeprowadzone badania wykazały, że grelina ma działanie ochronne na narządy przewodu pokarmowego, w tym błonę śluzową żołądka. Ponadto stwierdzono, że podawanie greliny przyspiesza gojenie przewlekłych wrzodów żołądka i dwunastnicy, a także regenerację trzustki w przebiegu jej ostrego zapalenia. Powyższe obserwacje wskazują, że również w przypadku uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej, podawanie greliny może wywoływać efekty terapeutyczne. Dlatego podjęte badania miały na celu określenie:

1. wpływu dootrzewnowego podawania egzogennej greliny na stan błony śluzowej jamy ustnej u zwierząt kontrolnych z zachowanymi śliniankami, u których nie wywoływano lub wywoływano uszkodzenia tej błony.

Kolejnym celem było zbadanie czy grelina ma wpływ na odnowę błony śluzowej u zwierząt z eksperymentalnie wywołaną suchością jamy ustnej. W tej części badań określono:

2. wpływ usunięcia ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych na stan błony śluzowej jamy ustnej i gojenie uszkodzeń tej błony;
3. wpływ podawania greliny na stan błony śluzowej jamy ustnej u zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi, u których nie wywoływano lub wywoływano uszkodzenia tej błony.

W następnym etapie wykorzystano zwierzęta z usuniętą przysadką mózgową. Badania te miały na celu określenie czy działanie greliny na błonę śluzową jamy ustnej jest jej działaniem bezpośrednim, czy też jest związane z uwalnianiem hormonu wzrostu i IGF-1. W tej części badań określono::

4. wpływ usunięcia przysadki mózgowej na stan błony śluzowej jamy ustnej i gojenie uszkodzeń tej błony;
5. wpływu podawania greliny na stan błony śluzowej u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, u których nie wywoływano lub wywoływano uszkodzenia tej błony.

3. MATERIAŁ I METODY

Badania zostały przeprowadzone na 196 szczurach rasy Wistar o wyjściowej masie ciała wynoszącej 150-170 g. W trakcie badań zwierzęta były przetrzymywane w metalowych klatkach o drucianym dnie, co zapobiegało koprofagii. W pomieszczeniu utrzymywano temperaturę pokojową z 12-godzinnym cyklem światło-ciemność. W dniu poprzedzającym operację pozorowaną, usunięcie ślinianek, usunięcie przysadki mózgowej lub wywołanie uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej, jak i przez 12 godzin w okresie pooperacyjnym, zwierzęta były głodzone z zachowanym stałym dostępem do wody. W pozostałych okresach miały stały dostęp do wody i pokarmu. Karmione były standardowym granulatem zawierającym wszystkie niezbędne składniki pokarmowe

3.1. Grupy zwierząt i procedury eksperymentalne

Badania przeprowadzono na trzech grupach zwierząt:

1. zwierzęta z zachowanymi śliniankami i zachowaną przysadką mózgową;
2. zwierzęta z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi, i zachowaną przysadką mózgową;
3. zwierzęta z zachowanymi śliniankami i usuniętą przysadką mózgową.

Każda grupa zwierząt była losowo dzielona na 6 podgrup:

- a. zwierzęta kontrolne (zwierzęta, którym podawano dootrzewnowo 2×dziennie roztwór soli fizjologicznej (0,9 % roztwór NaCl) bez wcześniejszego wywoływania uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej);
- b. zwierzęta, którym podawano dootrzewnowo 2×dziennie grelinę w dawce 8 nmol/kg masy ciała (m.c.)/dawkę bez wcześniejszego wywoływania uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej;
- c. zwierzęta, którym wywoływano uszkodzenia błony śluzowej jamy ustnej, a następnie podawano dootrzewnowo 2×dziennie roztwór soli fizjologicznej;
- d. zwierzęta, którym wywoływano uszkodzenia błony śluzowej jamy ustnej, a następnie podawano dootrzewnowo 2×dziennie grelinę w dawce 4 nmol/kg m.c./dawkę;

- e. zwierzęta, którym wywoływano uszkodzenia błony śluzowej jamy ustnej, a następnie podawano dootrzewnowo 2×dziennie grelinę w dawce 8 nmol/kg m.c./dawkę;
- f. zwierzęta, którym wywoływano uszkodzenia błony śluzowej jamy ustnej, a następnie podawano dootrzewnowo 2×dziennie grelinę w dawce 16 nmol/kg m.c./dawkę;

Badania przeprowadzone na zwierzętach z pierwszej grupy miały na celu określenie wpływu podawania greliny na stan błony śluzowej i leczenie uszkodzeń tej błony u zwierząt zdrowych z zachowanymi śliniankami i przysadką mózgową. Badania przeprowadzone na zwierzętach z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi oraz zachowaną przysadką mózgową miały na celu określenie wpływu usunięcia ślinianek na stan błony śluzowej jamy ustnej i gojenie uszkodzeń tej błony. Ta grupa zwierząt posłużyła też do zbadania wpływu usunięcia ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych na efekty podawania greliny. Trzecia grupa zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, a zachowanymi śliniankami umożliwiła określenie roli przysadki mózgowej w efektach greliny na błonę śluzową jamy ustnej.

Aktywna forma greliny z grupą oktanylową przyłączoną do 3 aminokwasu – seryny, uzyskano z Instytutu Yanaihara (Shizuoka, Japonia). Zwierzęta z wywołanymi uszkodzeniami błony śluzowej jamy ustnej, pierwszą dawkę greliny otrzymywały w dniu wywołania uszkodzeń bezpośrednio po ich wywołaniu. Zwierzęta, u których nie wywoływano uszkodzeń błony śluzowej, otrzymywały grelinę w tym samym czasie jak zwierzęta w wywołanymi uszkodzeniami.

Badania były powtarzane kilkakrotnie tak, aby w każdej podgrupie eksperymentalnej uzyskana została liczebność wynosząca 10 zwierząt.

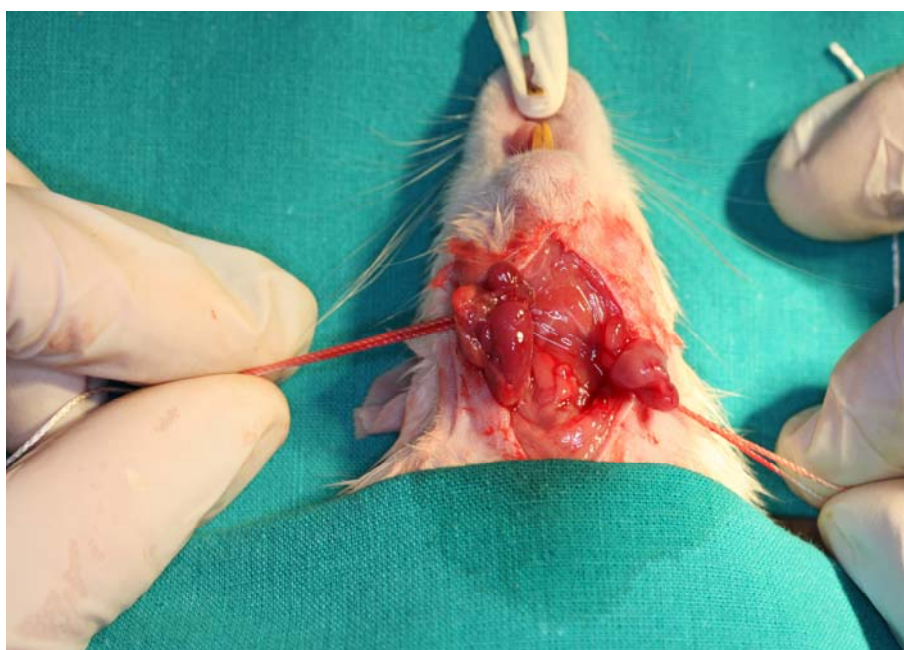
3.1.1. Usunięcie ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych

Ślinianki podżuchwowe i podjęzykowe zostały usunięte zgodnie z metodyką opisaną wcześniej przez Konturka i innych (1988). Dwa tygodnie przed wywołaniem uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej, zwierzęta wprowadzano stan znieczulenia ogólnego za pomocą ketaminy (Bioketan, Biowet, Gorzów Wielkopolski, Polska) podawanej dootrzewnowo w dawce 50 mg/kg m.c. Po przygotowaniu pola operacyjnego przecinano podłużnie skórę na szyi, a następnie preparując mięśnie na tępo uzyskiwano

dostęp do ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych (Ryc. 1). Na

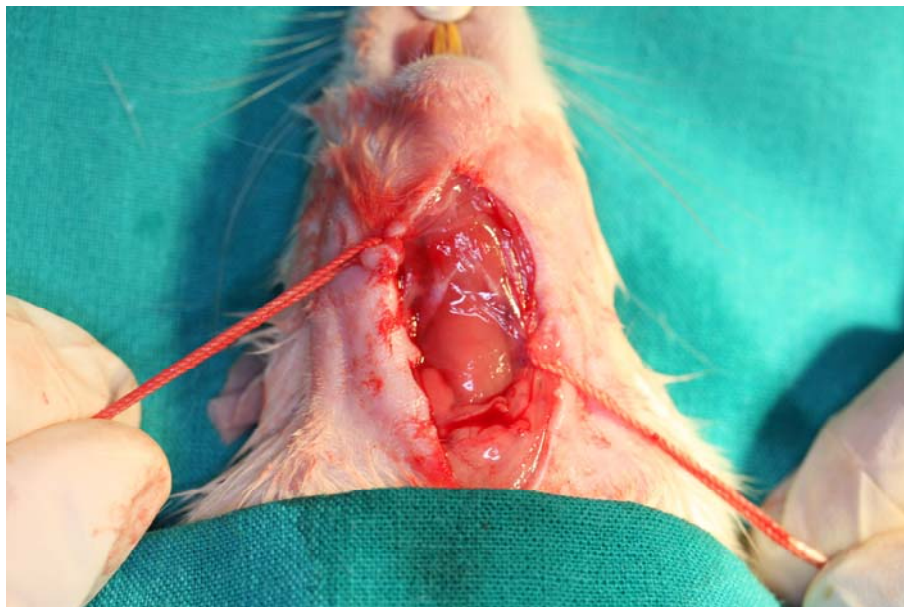


Ryc. 1. Po podłużnym przecięciu skóry na szyi, preparując mięśnie na tępo uzyskiwano dostęp do ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych.



Ryc. 2. Założenie podwiązek na wypreparowane ślinianki podżuchwowe i podjęzykowe.

ślinianki zakładano u ich nasady podwiązki (Ryc. 2), a następnie ślinianki odcinano. (Ryc. 3). Po usunięciu ślinianek ranę na szyi zamykano szyjąc skórę szwami pojedynczymi.



Ryc. 3. Stan po usunięciu ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych

3.1.2. Usunięcie przysadki mózgowej

Przysadkę mózgową usuwano za pomocą metody z dostępu usznego opisaną pierwotnie przez Falconiego i Rossi (1964). Dwa tygodnie przed wywołaniem uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej wprowadzano zwierzęta w stan znieczulenia ogólnego za pomocą ketaminy jak w punkcie 3.1.1. Następnie wprowadzano do prawego przewodu słuchowego igłę założoną na strzykawkę i korzystając z przewodu słuchowego, jako przewodnicy przemieszczano igłę w kierunku linii środkowej głowy. Procedura ta umożliwiała dotarcie do przysadki mózgowej. Następnie usuwano przysadkę mózgową za pomocą aspiracji. Skuteczność usunięcia przysadki mózgowej weryfikowano pod koniec badań poprzez oznaczenie u zwierząt stężenia hormonu wzrostu. Brak obecności hormonu wzrostu w surowicy uznawano za dowód całkowitego usunięcia przysadki mózgowej. Natomiast stwierdzenie obecności hormonu wzrostu w surowicy zwierząt poddanych procedurze usuwania przysadki świadczyło o nieskuteczności usunięcia przysadki. Wyniki uzyskane od takich zwierząt ulegały odrzuceniu.

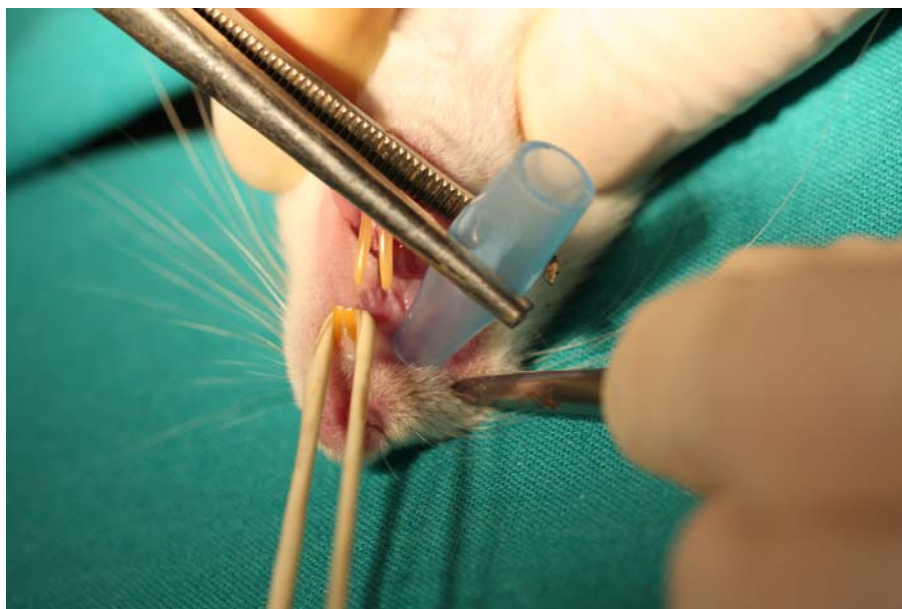
3.1.3. Operacje pozorowane

Zwierzęta, które nie podlegały operacji usunięcia ślinianek były, podobnie jak zwierzęta podlegające tej procedurze, usypiane za pomocą ketaminy jak w punkcie 3.1.1. Następnie po przygotowaniu pola operacyjnego nacinano podłużnie skórę szyi i preparowano na tępo mięśnie uzyskując dostęp do ślinianek podżuchwowych. Po uwidocznieniu ślinianek pozostawiano je we właściwym im położeniu anatomicznym, a ranę szyi zamykano szyjąc skórę szwami pojedynczymi.

Zwierzęta, u których nie wywoływano uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej, były znieczulane za pomocą ketaminy, w tym samym okresie, co zwierzęta poddane procedurze wywoływania wrzodów. Następnie eksponowano błonę śluzową dziąsła i języka bez podawania kwasu octowego.

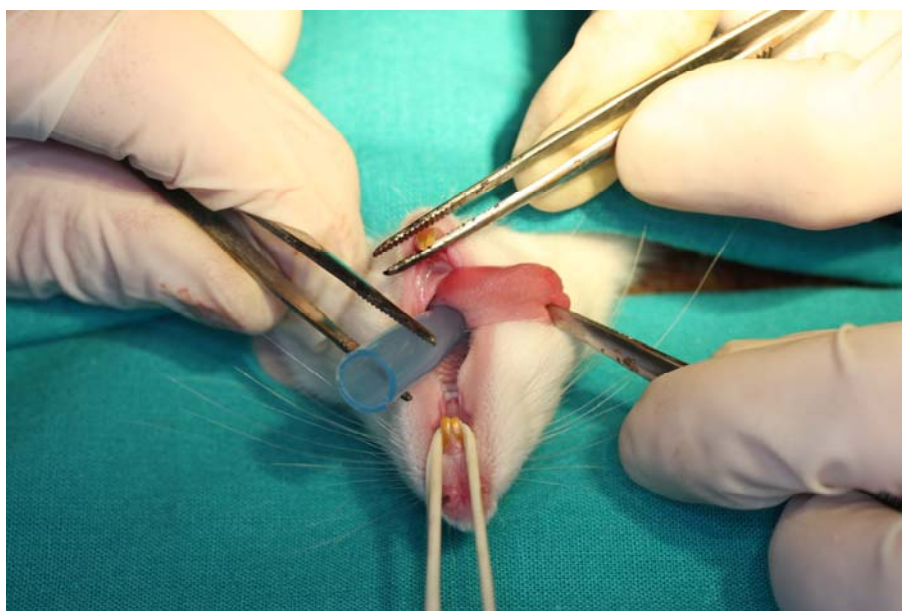
3.1.4. Wywoływanie przewlekłych uszkodzeń błony śluzowej dziąsła i języka

Przewlekłe uszkodzenia błony śluzowej były wywoływane zgodnie z metodyką



Ryc. 4. Wywoływanie wrzodów błony śluzowej dziąsła szczęki górnej.

opisaną pierwotnie przez Konturka i innych (1988) po upływie dwóch tygodni od usunięcia ślinianek, usunięcia przysadki mózgowej lub operacji pozorowanej. Po



Ryc. 5. Wywoływanie wrzodów błony śluzowej górnej powierzchni języka. Stan po przyłożeniu tulei o wewnętrznej średnicy wynoszącej 5 mm.



Ryc. 6. Wywoływanie wrzodów błony śluzowej na górnej powierzchni języka. Napełnianie tulei 100% kwasem octowym.

wprowadzeniu zwierząt w stan znieczulenia ogólnego za pomocą ketaminy (jak w punkcie 3.1.1) eksponowano błonę śluzową dziąsła szczęki górnej. Do powierzchni tak uwidocznionej błony śluzowej przykładano, powyżej siekaczy, tuleję plastikową o wewnętrznej średnicy wynoszącej 4 mm. (Ryc. 4). Następnie tuleję napelniano 100% kwasem octowym, co umożliwiło kontakt błony śluzowej dziąsła z kwasem. Powierzchnia kontaktu błony śluzowej z kwasem octowym odpowiadała powierzchni wewnętrznego przekroju tulei. Po upływie 15 sekund od podania kwasu octowego do tulei, kwas odsączono. Następnie podobnie wywoływano uszkodzenia błony śluzowej języka. Do błony śluzowej górnej powierzchni języka przykładano plastikową tuleję o wewnętrznej średnicy wynoszącej 5 mm (Ryc. 5). Tuleję napelniano 100% kwasem octowym i po 15 sekundach kwas octowy usuwano (Ryc. 6).

3.1.5. Pomiar przepływu krwi przez błonę śluzową dziąsła i języka

Pomiar przepływu krwi przez błonę śluzową dziąsła i języka wykonywano codziennie pomiędzy pierwszym, a szóstym dniem od wywołania uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej. Pomiar przeprowadzano u zwierząt z wywołanymi uszkodzeniami błony śluzowej, jak i u zwierząt bez wywoływania tych uszkodzeń. Każdorazowo przed dokonaniem pomiaru przepływu krwi zwierzęta były znieczulane za pomocą ketaminy. Następnie po uwidocznieniu dziąsła i języka mierzono przepływ krwi przez błonę śluzową tych narządów przy użyciu laserowego przepływomierza (PeriFlux 4001 Master monitor (Perimed AB, Järfälla, Szwecja) zgodnie z wcześniej opisaną metodyką (Dembiński i inni, 2005b). Pomiar wykonywano w obszarach błony śluzowej leżących na granicy wrzodów i zdrowej błony śluzowej. Każdorazowo mierzono przepływ krwi w pięciu różnych częściach błony śluzowej danego narządu. Powierzchnia emisji promienia laserowego wynosiła około 1 mm². Uzyskane odczyty zostały przedstawione jako procent wartości uzyskanej u zwierząt kontrolnych.

3.1.6. Pomiar wielkości wrzodów błony śluzowej dziąsła i języka

Codziennie pomiędzy pierwszym, a szóstym dniem od dnia wywołania uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej, po pomiarze przepływu krwi dokonywano pomiaru powierzchni wrzodów błony śluzowej dziąsła i górnej powierzchni języka metodą planimetryczną.

3.2. Oznaczenia biochemiczne

W ostatnim dniu badań, po upływie sześciu dni od wywołania wrzodów, po pomiarze śluzówkowego przepływu krwi i określeniu wielkości wrzodów, pobierano wycinki błony śluzowej dziąsła i języka z okolic wcześniejszej lokalizacji uszkodzeń tej błony celem określenia nasilenia syntezy DNA w komórkach tej błony. Ponadto pobierano wycinki błony śluzowej do oceny morfologicznej oraz do określenia śluzówkowego stężenia pro-zapalnej interleukiny-1 β . Po pobraniu wycinków otwierano jamę brzuszną zwierząt i po uwidocznieniu aorty brzusznej pobierano z niej krew. Po wytworzeniu skrzepu krew wirowano, a uzyskaną surowicę przechowywano w temperaturze -60°C do czasu wykonania oznaczeń biochemicznych. W przypadku surowicy przeznaczonej do oznaczenia stężenia greliny, do 1 ml surowicy dodawano 50 μ l 1 N HCl oraz 10 μ l roztworu fluorku fenylometylosulfonylowego (phenylmethylsulfonyl fluoride-PMSF; 10 mg PMSF/ml metanolu), a następnie próbkę zamrażano i w tej formie przetrzymywano do czasu przeprowadzenia oznaczeń stężenia greliny w surowicy. W dniu wykonania oznaczeń, surowicę rozmrażano w temperaturze pokojowej. Procedura ta chroniła aktywną formę greliny przed jej degradacją.

3.2.1. Określenie syntezy DNA w błonie śluzowej dziąsła i języka

Badanie syntezy DNA w błonie śluzowej pozwoliło na określenie nasilenia proliferacji komórkowej w tej błonie. Syntezę DNA oznaczano metodą radioizotopową poprzez pomiar wbudowywania tymidyny znakowanej trytem do DNA komórek, zgodnie z opisaną wcześniej metodyką (Demiński i inni, 2005b). Wycinek błony śluzowej rozdrabniano za pomocą nożyczek, a następnie tak przygotowaną tkankę inkubowano w temperaturze 37°C przez 45 minut w 2 ml roztworu odżywczego, zawierającego tymidynę znakowaną trytem ([6-³H]thymidine, 20-30 Ci/mmol; Institute for Research, Production and Application of Radioisotopes, Praga, Czechy) o aktywności 8 μ Ci /ml. Zawartość DNA w badanej próbce oznaczano metodą Giles'a i Myers'a (1965). Nasilenie syntezy DNA wyrażano poprzez ilość rozpadów wbudowanego trytu w ciągu jednej minuty (disintegrations per minute – dpm), przypadającą na 1 μ g DNA (dpm/ μ g DNA).

3.2.2. Oznaczenie stężenia interleukiny-1 β w surowicy i błonie śluzowej dziąsła i języka

Stężenie interleukiny-1 β oznaczano w surowicy i błonie śluzowej jamy ustnej metodą ELISA za pomocą zestawów diagnostycznych BioSource Cytoscreen rat IL-1 β (BioSource International, Camarillo, Kalifornia, USA). W przypadku błony śluzowej dziąsła i języka, wycinek tkanki bezpośrednio po pobraniu był zamrażany w ciekłym azocie. W dniu wykonania oznaczenia każdy wycinek był umieszczany w 1 ml buforu fosforanowego (pH 7,4) o temperaturze 4°C, a następnie homogenizowany mechanicznie. Następnie próbki były wirowane przez 10 min z przyspieszeniem wynoszącym 10 000 g. W otrzymanym supernatancie oznaczano stężenie interleukiny-1 β przy użyciu wymienionych powyżej zestawów firmy BioSource International oraz badano stężenie białka przy użyciu metody Bradforda (1976). Stężenia interleukiny-1 β w surowicy przedstawiono w pg na 1 mililitr surowicy. Stężenia interleukiny-1 β w błonie śluzowej przedstawiono w ng na 1 g białka.

3.2.3. Oznaczenie stężenia greliny, hormonu wzrostu i IGF-1 w surowicy

Stężenie greliny w surowicy zostało dokonane przy użyciu testu radioimmunologicznego produkcji Peninsula Laboratories, Inc. (San Carlos, CA, USA). Test ten jest specyficzny dla aktywnej biologicznie greliny, w której seryna w pozycji 3 posiada grupę octanylową. Przeciwciała wchodzące w skład testu nie wykazują reakcji krzyżowych z cząsteczkami greliny pozbawionymi grup octanilowych. Poziomą wrażliwość testu wynosi 15 pg/ml.

Stężenie hormonu wzrostu w surowicy było oznaczane metodą radioimmunologiczną przy użyciu testu Rat Growth Hormone RIA Kit produkcji LINCO Research (St. Charles, Missouri, USA). Poziomą wrażliwość testu wynosi 0,5 ng/ml.

Stężenie insulinopodobnego czynnika wzrostu-1 (insulin-like growth factor-1 – IGF-1) w surowicy był oznaczany metodą radioimmunologiczną przy użyciu testu Mouse/Rat IGF-I RIA Kit produkcji Diagnostic System Laboratories, Inc. (Webster, Texas, USA). Przed wykonaniem oznaczenia do próbek surowicy dodawano rozwór ekstrakcyjny (etanolowy rozwór kwasu solnego). Następnie próbki neutralizowano

zgodnie z zalecanym przez producenta testu protokołem oznaczenia. Poziomą wrażliwość testu wynosi 21 ng/ml.

3.2.4. Ocena makroskopowa i histologiczna stanu błony śluzowej jamy ustnej

Stan błony śluzowej jamy ustnej oceniano makroskopowo zwracając uwagę na zabarwienie błon śluzowych i stopień jej wilgotności. Następnie pobierano wycinki błony śluzowej dziąsła i policzków i języka do oceny histologicznej. Wycinki były utrwalane przez 24 godziny w 10% zbuforowanej formalinie i zatapiane w parafinie. Preparaty barwiono hematoksyliną i eozyną. Oceniano warstwowość błony śluzowej i obecność nacieku zapalnego.

3.5. Analiza statystyczna

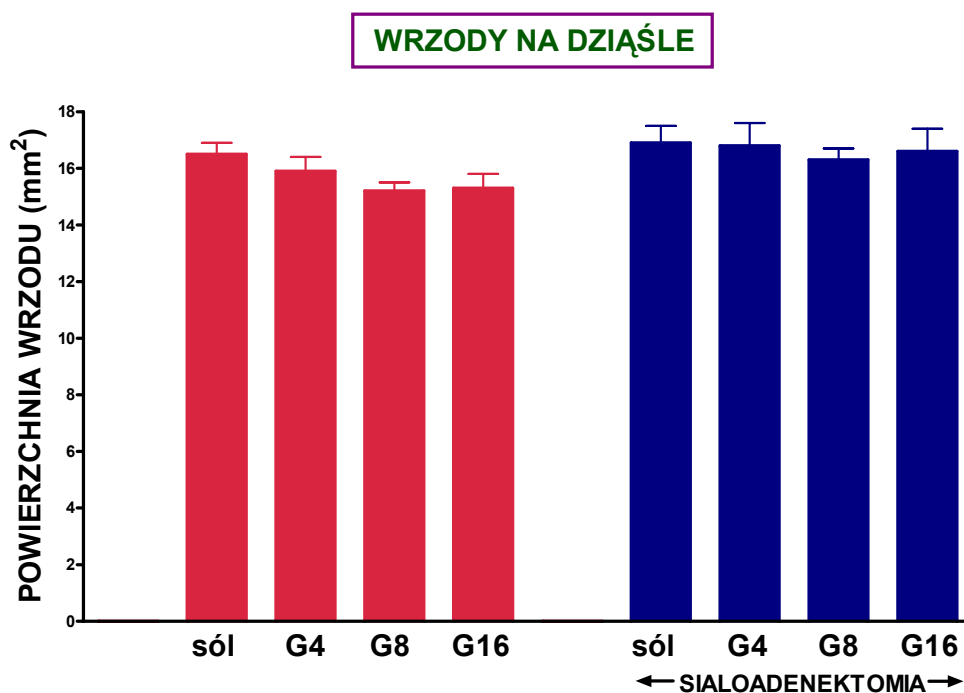
Wyniki, poza oceną histologiczną, zostały przedstawione jako średnia \pm błąd standardowy. Statystyczną ocenę wykonywano poprzez analizę wariancji i test Tukey'a przy użyciu programu GraphPadPrism (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Różnice uważano za statystycznie znamienne, jeżeli p było mniejsze niż 0,05.

4. WYNIKI BADAŃ

4.1. Wpływ podawania greliny na gojenie przewlekłych wrzodów błony śluzowej jamy ustnej

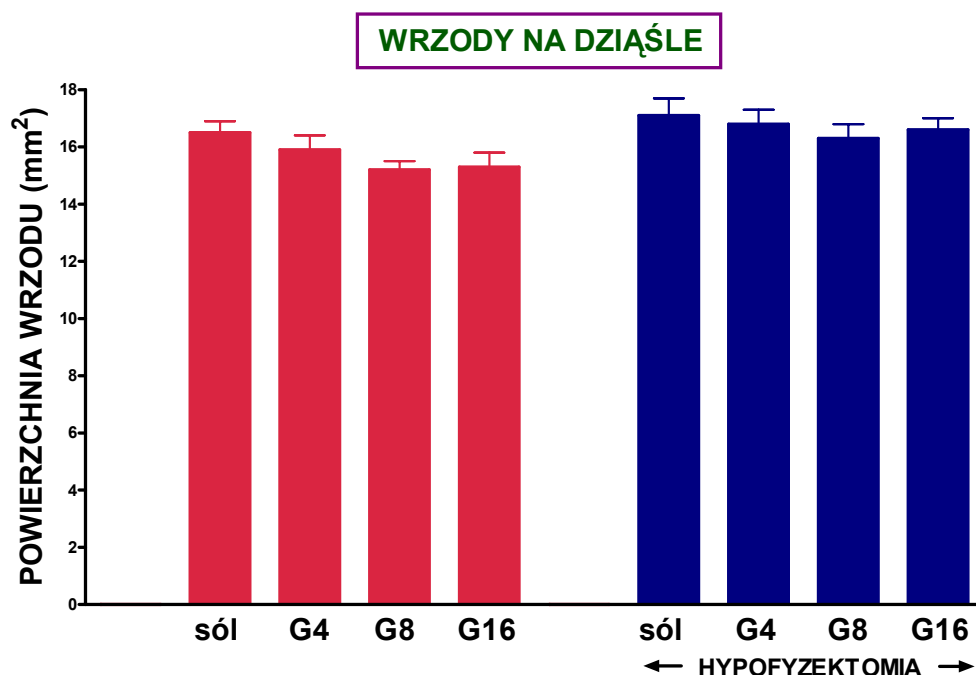
4.1.1. Wpływ podawania greliny na gojenie przewlekłych wrzodów błony śluzowej dziąsła

Pierwszej oceny powierzchni wrzodów błony śluzowej dziąsła dokonano po upływie jednego dnia od ich wywołania i rozpoczęcia podawania greliny. U zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką, którym podawano dootrzewnowo sól fizjologiczną (kontrola) wielkość wrzodów wynosiła $16,5 \pm 0,4 \text{ mm}^2$ (Fig. 7).

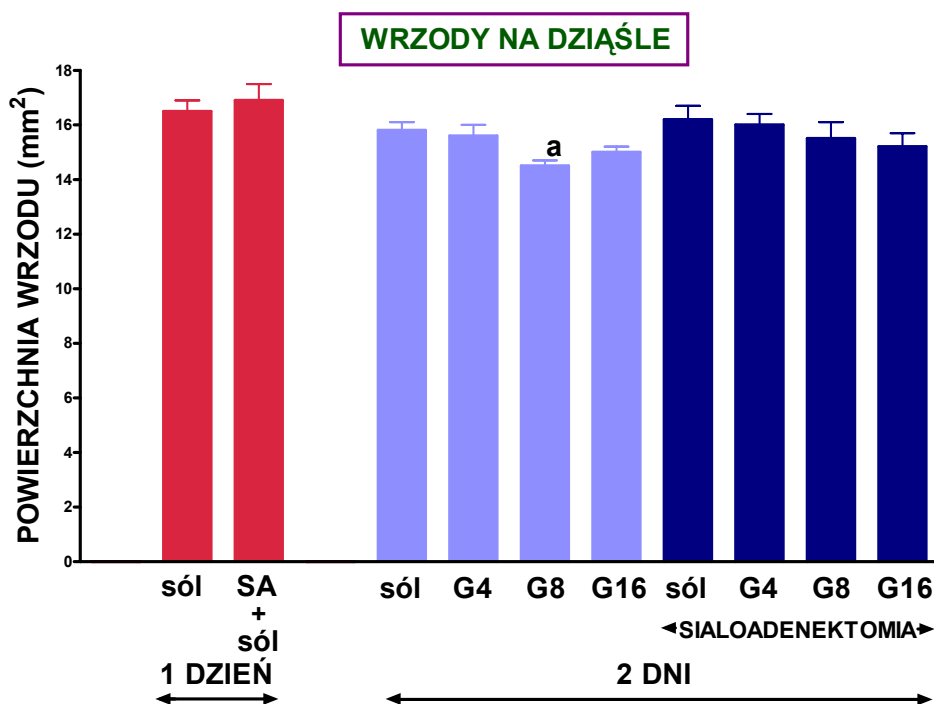


Ryc. 7. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po jednym dniu od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialadenektomia). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie.

Jednodniowe podawanie greliny we wszystkich zastosowanych dawkach pozostawało bez statystycznie znamiennej zmiany na wielkość uszkodzeń błony śluzowej dziąsła. Wcześniejsze usunięcie ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych (sialadenektomia)



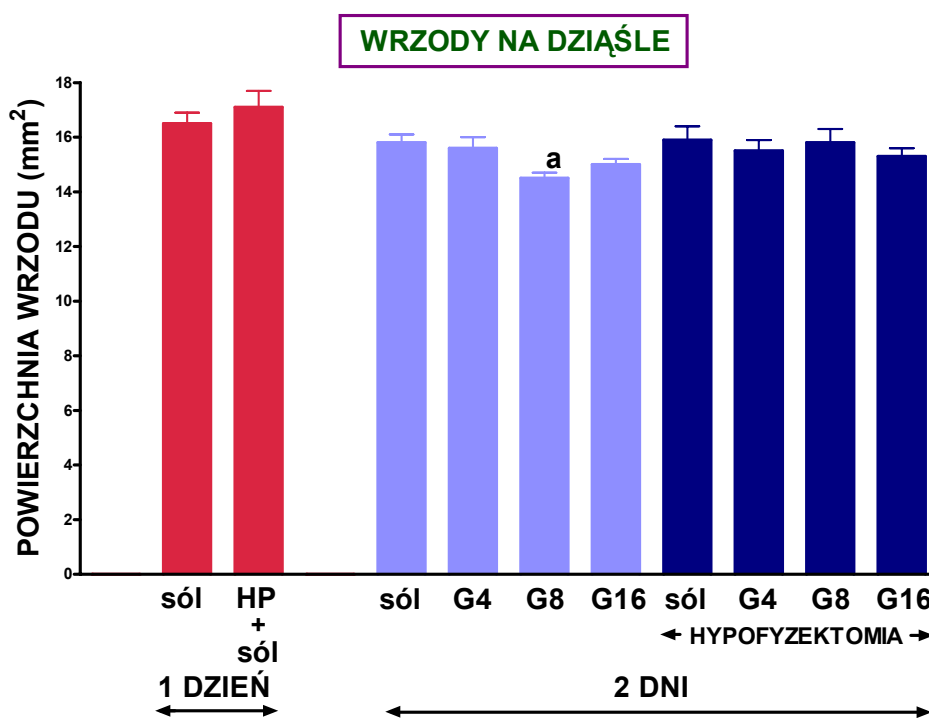
Ryc. 8. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po jednym dniu od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie.



Ryc. 9. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po dwóch dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia –SA). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną.

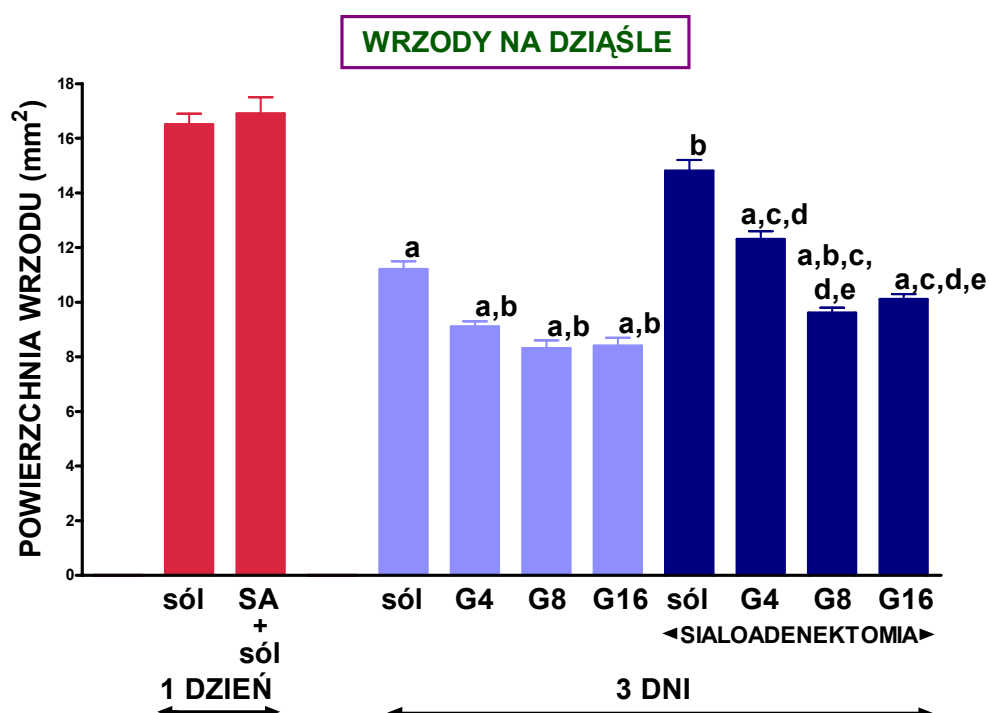
(Ryc. 7) lub usunięcie przysadki mózgowej (hypofyzektomia) (Ryc. 8) powodowało, że powierzchnia wrzodów była trochę większa, ale efekt ten był statystycznie nieznamienny. Podobnie jak u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką, jednodniowe podawanie greliny u zwierząt z usuniętymi śliniankami (Ryc. 7) lub zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, pozostawało bez wpływu na wielkość uszkodzeń błony śluzowej dziąsła.

Po dwóch dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej dziąsła, powierzchnia tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną wynosiła $15,8 \pm 0,3 \text{ mm}^2$ (Ryc. 9). Podawanie greliny w tej grupie zwierząt, przyspieszało proces gojenia uszkodzeń błony śluzowej dziąsła, jednak efekt ten osiągał znamienność statystyczną jedynie, gdy grelina była podawana w dawce 8 nmol/kg/dawkę. Dwudniowe podawanie greliny w zastosowanych dawkach było bez statystycznie znamiennego wpływu na gojenie uszkodzeń błony śluzowej dziąsła u zwierząt z usuniętymi śliniankami (Ryc. 9), jak i usuniętą przysadką mózgową (Ryc. 10).



Ryc. 10. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po dwóch dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia - HP). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną.

Błona śluzowa dziąsła podlegała spontanicznemu gojeniu we wszystkich grupach zwierząt. Po trzech dniach od wywołania wrzodów, powierzchnia uszkodzeń błony śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką, którym podawano sól fizjologiczną osiągała 11,2 mm² (Ryc. 11) i była statystycznie znacznie mniejsza w stosunku do wielkości obserwowanej po jednym dniu od wywołania wrzodów. Podawanie greliny, we wszystkich zastosowanych dawkach, statystycznie znacznie przyspieszało ten proces. Lecniczy efekt najsilniej zaznaczał się przy zastosowaniu greliny w dawce wynoszącej 8 lub 16 nmol/kg/dawkę. Jednak różnice efektów dla poszczególnych dawek greliny nie wykazywały znamienności statystycznej.

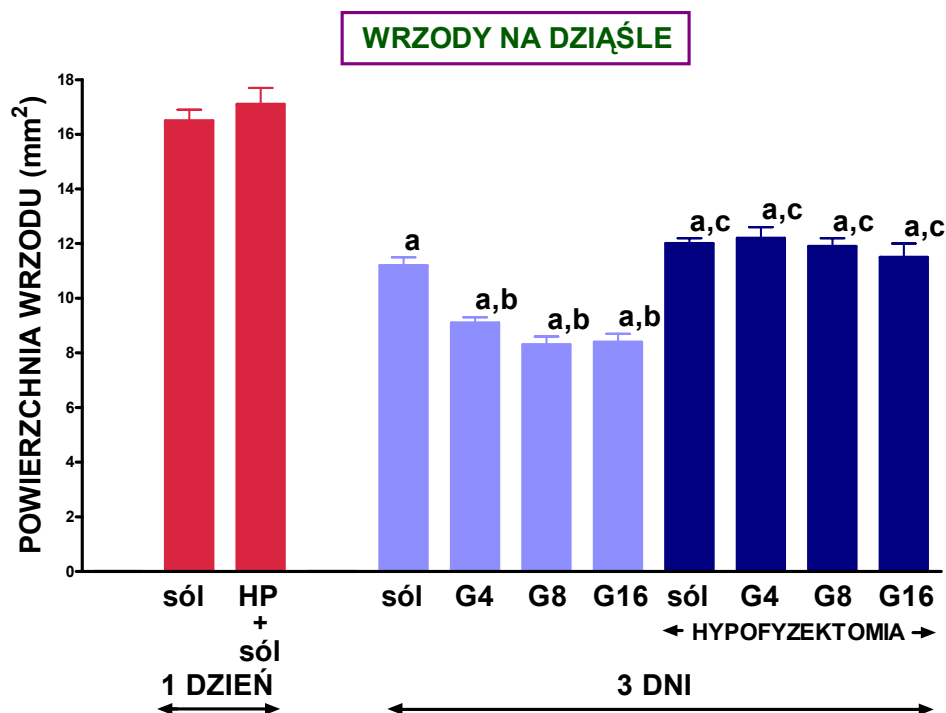


Ryc. 11. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po trzech dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialadenektomia –SA). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po trzech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po trzech dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po trzech dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano G4.

Również w grupie zwierząt pozbawionej ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych, które otrzymywały dootrzewnowo sól fizjologiczną, dochodziło do spontanicznego gojenia uszkodzeń błony śluzowej dziąsła, ale proces ten był wolniejszy niż u zwierząt z zachowanymi śliniankami. Trzy dni po wywołaniu uszkodzeń błony śluzowej dziąsła, powierzchnia wrzodów, u zwierząt z usuniętymi śliniankami otrzymujących sól fizjologiczną, była statystycznie znamienne większa w porównaniu do powierzchni wrzodów obserwowanej u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z zachowanymi śliniankami (Ryc. 11). Trzydniowe podawanie greliny u zwierząt z usuniętymi śliniankami statystycznie znamienne przyspieszało gojenie uszkodzeń błony śluzowej dziąsła. Grelina podawana w dawce 4 nmol/kg/dawkę powodowała, że powierzchnia wrzodów dziąsła u zwierząt po sialadenektomii malała do wartości zbliżonych do tych, które były obserwowane u zwierząt z zachowanymi śliniankami, bez podawania greliny. U zwierząt po sialadenektomii, lecznicze efekty podawania greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę były statystycznie znamienne lepsze, niż po podaniu greliny w dawce 4 nmol/kg/dawkę (Ryc. 11).

Usunięcie przysadki mózgowej miało niewielki wpływ na spontaniczne gojenie uszkodzeń błony śluzowej dziąsła. Trzy dni po wywołaniu wrzodów, powierzchnia wrzodów błony śluzowej dziąsła u zwierząt pozbawionych przysadki, którym nie podawano greliny, była znamienne mniejsza niż powierzchnia wrzodów obserwowana po jednym dniu od wywołania wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną (Ryc. 12). Natomiast, trzy dni po wywołaniu wrzodów, brak było znamienych statystycznie różnic pomiędzy wielkością wrzodów obserwowanych u zwierząt z zachowaną i usuniętą przysadką, jeżeli te zwierzęta nie otrzymywały greliny. W grupie z usuniętą przysadką mózgową nie obserwowano też leczniczego działania greliny na gojenie uszkodzeń błony śluzowej dziąsła (Ryc. 12).

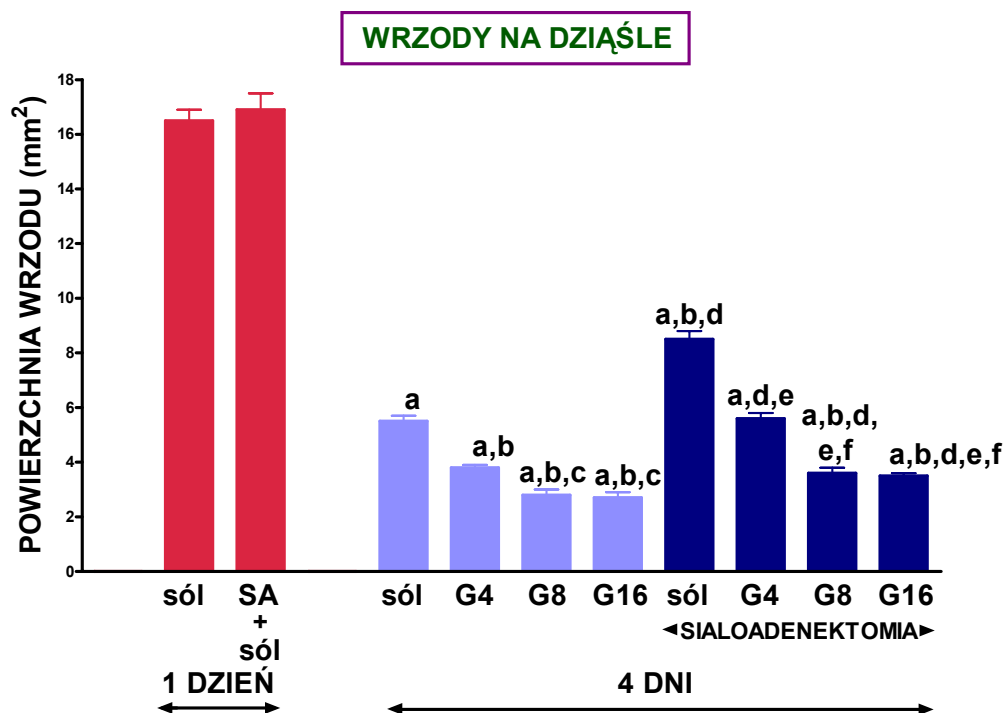
Po czterech dniach od wywołania uszkodzeń błony śluzowej dziąsła obserwowano dalsze zmniejszanie powierzchni wrzodów we wszystkich grupach zwierząt (Ryc. 13 i Ryc. 14). W grupie z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, u zwierząt otrzymujących sól fizjologiczną powierzchnia wrzodów błony śluzowej dziąsła była zmniejszona o 67% w stosunku do powierzchni obserwowanej po jednym dniu od wywołania wrzodów (Ryc. 13). Podawanie greliny znamienne przyspieszało gojenie wrzodów w tej grupie zwierząt. Efekty podawania greliny w dawce 8 i 16 nmol/kg/dawkę były zbliżone do siebie, a jednocześnie statystycznie znamienne lepsze



Ryc. 12. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po trzech dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia - HP). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po trzech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętą przysadką (HP), którym podawano sól fizjologiczną.

od efektów podawania greliny w dawce 4 nmol/kg/dawkę. Spontaniczne gojenie błony śluzowej dziąsła postępowało też w grupie zwierząt po sialoadenektomii, choć wolniej niż w grupie zwierząt z zachowanymi śliniankami. Po czterech dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej dziąsła, różnica ta była statystycznie znamienne (Ryc. 13). Podawanie greliny zwierzętom z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi przyspieszało gojenie uszkodzeń błony śluzowej dziąsła. W tej grupie zwierząt czterodniowe podawanie greliny w dawce 4, 8 i 16 nmol/kg/dawkę powodowało zmniejszenie powierzchni wrzodów odpowiednio do wartości $5,6 \pm 0,2$, $3,6 \pm 0,2$ i $3,5 \pm 0,1$ mm² (Ryc. 13).

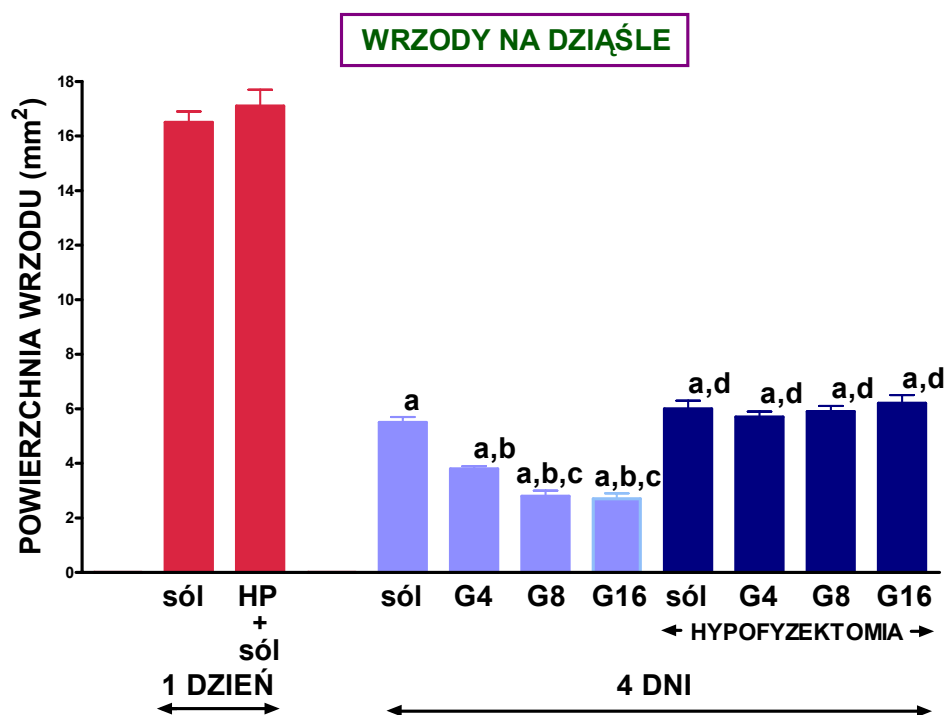
U pozbawionych przysadki zwierząt otrzymujących sól fizjologiczną powierzchnia wrzodów błony śluzowej dziąsła po czterech dniach od ich wywołania, zmniejszała się o 65% w stosunku do powierzchni obserwowanej po jednym dniu po



Ryc. 13. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po czterech dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia –SA). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^f $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano G4.

wywołaniu wrzodów (Ryc. 14). Podawanie greliny było bez wpływu na gojenie wrzodów błony śluzowej dziąsła u zwierząt pozbawionych przysadki mózgowej (Ryc. 14).

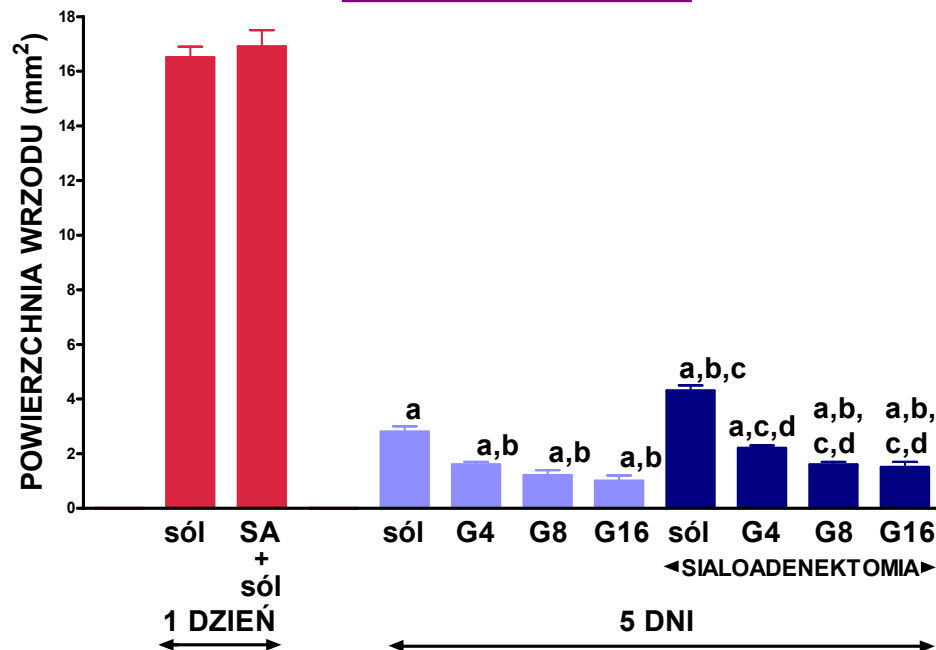
Po pięciu dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej dziąsła, obserwowano dalsze gojenie tych wrzodów. Efekt ten obserwowany był zarówno w grupie z nienaruszonymi śliniankami i przysadką mózgową, jak i w grupie z usuniętymi śliniankami i pozostawioną przysadką mózgową (Ryc. 15), a także w grupie z usuniętą przysadką mózgową (Ryc. 16). Podobnie jak we wcześniejszych dniach, podawanie greliny przyspieszało leczenie wrzodów błony śluzowej dziąsła w grupie zwierząt z



Ryc. 14. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po czterech dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia - HP). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętą przysadką (HP), którym podawano sól fizjologiczną

nienaruszonymi śliniankami i zachowaną przysadką mózgową, jak też w grupie z usuniętymi śliniankami i zachowaną przysadką mózgową (Ryc. 15). Natomiast w grupie z usuniętą przysadką mózgową nie obserwowano leczniczego działania greliny w gojeniu uszkodzeń błony śluzowej dziąsła (Ryc. 16).

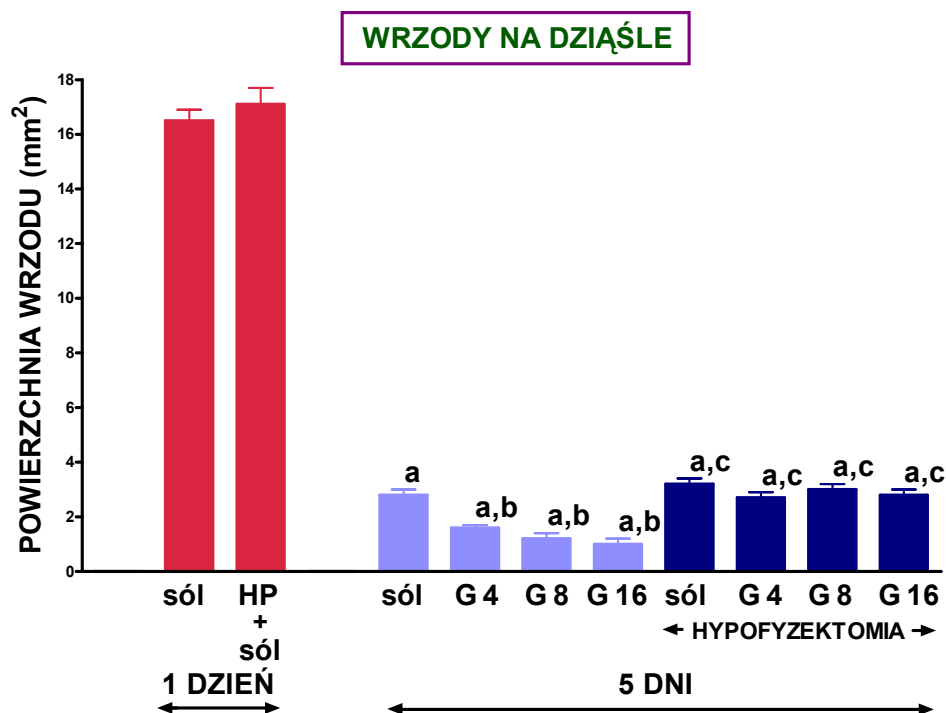
Po sześciu dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej dziąsła dochodziło do niemal całkowitego spontanicznego wygojenia uszkodzeń błony śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowanymi śliniankami podżuchwowymi i nienaruszoną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną (Ryc. 17). Średnio powierzchnia wrzodów błony śluzowej dziąsła u tych zwierząt wynosiła $1,4 \pm 0,1$ mm². Podanie greliny przyspieszało proces gojenia i efekt ten był statystycznie znamieny. W grupie zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, podanie greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowało całkowite wygojenie błony śluzowej dziąsła.



Ryc. 15. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po pięciu dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia –SA). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po pięciu dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po pięciu dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną.

W przypadku zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi, powierzchnia wrzodów błony śluzowej dziąsła po sześciu dniach podawania soli fizjologicznej wynosiła $2,5 \pm 0,1 \text{ mm}^2$ i była statystycznie większa niż u zwierząt z zachowanymi śliniankami (Ryc. 17). Podobnie jak u zwierząt z zachowanymi śliniankami, podanie greliny przyspieszało procesy naprawcze w błonie śluzowej zwierząt bez ślinianek i efekt ten był statystycznie istotny dla wszystkich zastosowanych dawek greliny. Grelina podawana dawce greliny 8 i 16 nmol/kg/dawkę powodowała w tej grupie zwierząt całkowite wygojenie wrzodów błony śluzowej dziąsła po sześciu dniach od wywołania wrzodów (Ryc. 17).

Powierzchnia uszkodzeń błony śluzowej dziąsła u zwierząt pozbawionych przysadki, którym podawano sól fizjologiczną wynosiła, po sześciu od wywołania tych

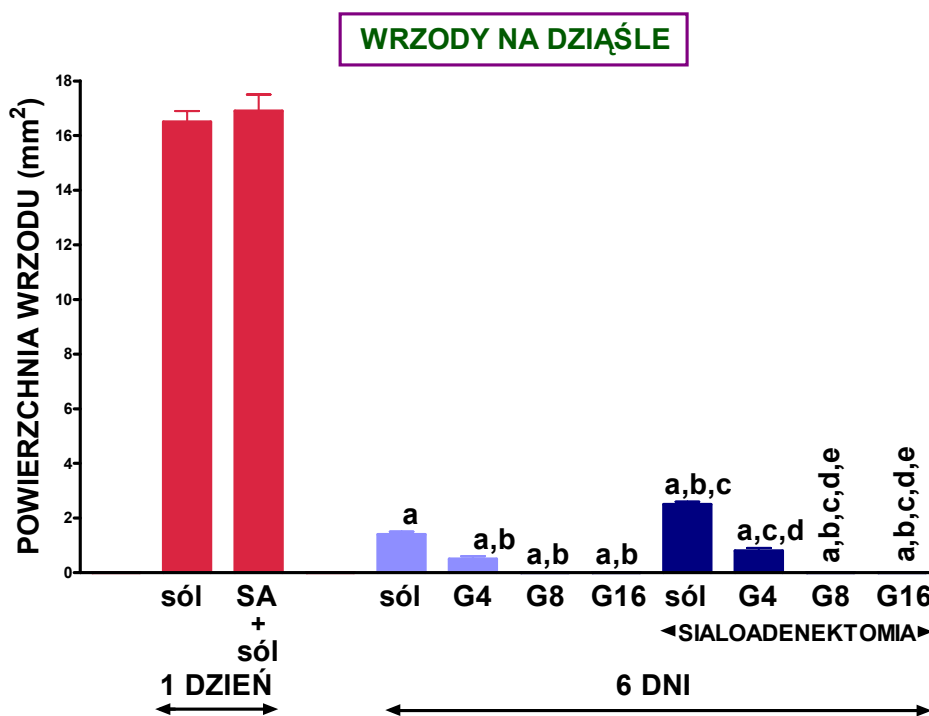


Ryc. 16. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po pięciu dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia - HP). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po pięciu dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętą przysadką (HP), którym podawano sól fizjologiczną.

uszkodzeń, $1,6 \pm 0,1 \text{ mm}^2$ i była zbliżona do powierzchni uszkodzeń obserwowanej u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową (Ryc. 18). Podobnie jak we wcześniejszych okresach obserwacji, podanie greliny nie miało wpływu na gojenie uszkodzeń błony śluzowej dziąsła u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową (Ryc. 18).

4.1.2. Wpływ podawania greliny na gojenie przewlekłych wrzodów błony śluzowej języka

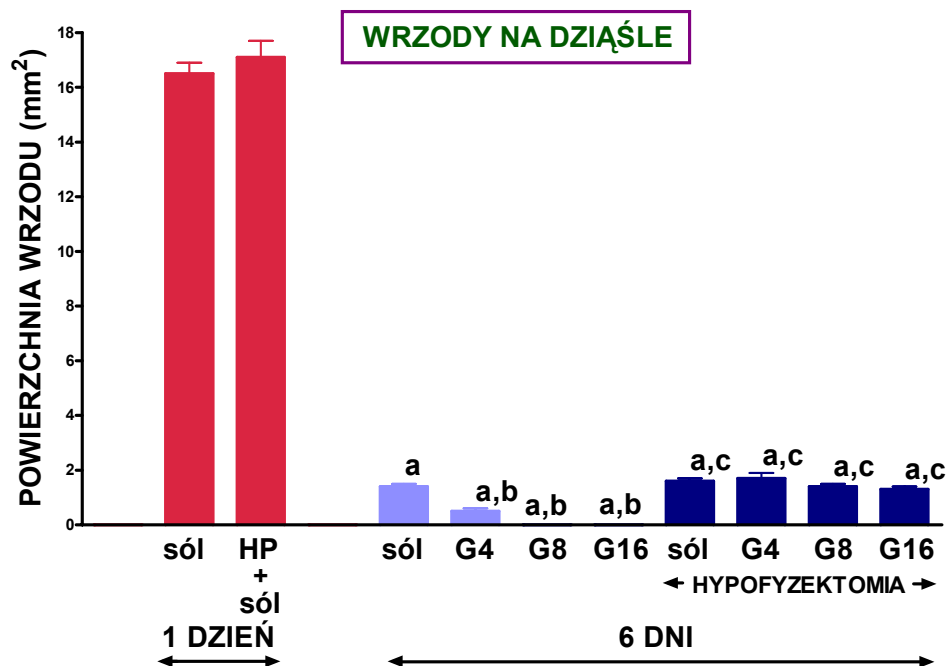
Po jednym dniu od wywołania wrzodów błony śluzowej języka i jednodniowym podawaniu soli fizjologicznej, u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, powierzchnia wrzodów wynosiła $25,8 \pm 0,6 \text{ mm}^2$ (Ryc. 19). Powierzchnia ta była zbliżona do powierzchni wrzodów obserwowanej u otrzymujących



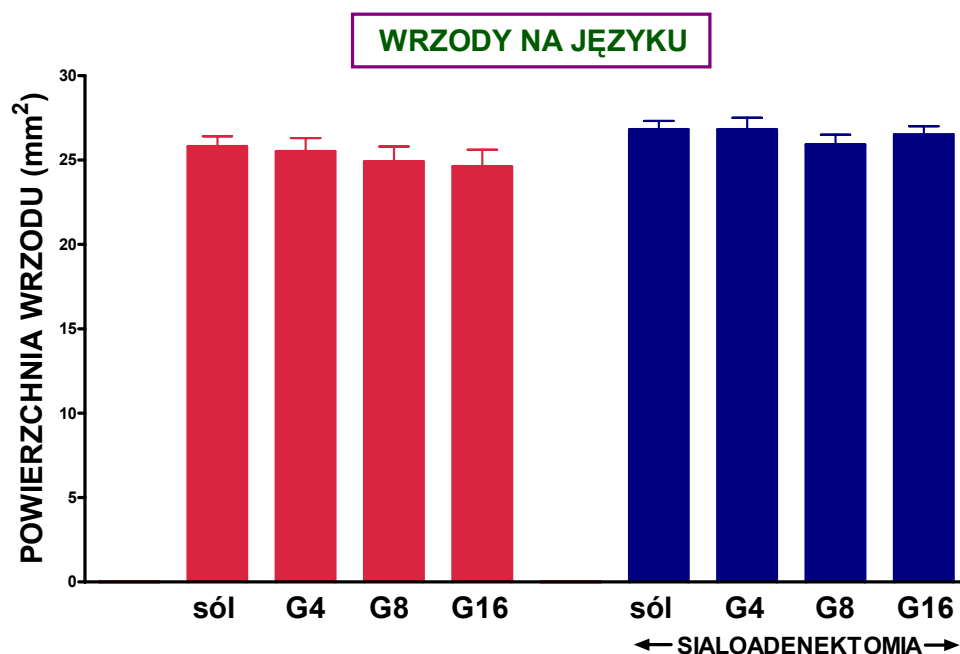
Ryc. 17. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po sześciu dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia –SA). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po sześciu dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po sześciu dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po sześciu dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano G4.

sól fizjologiczną zwierząt z usuniętymi śliniankami i zachowaną przysadką mózgową (Ryc. 19), jak też u zwierząt z zachowanymi śliniankami i usuniętą przysadką mózgową (Ryc. 20). Jednodniowe podawanie greliny w zastosowanych dawkach (4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę) pozostawało bez wpływu na wielkość wrzodów we wszystkich grupach zwierząt (Ryc. 19 i Ryc. 20).

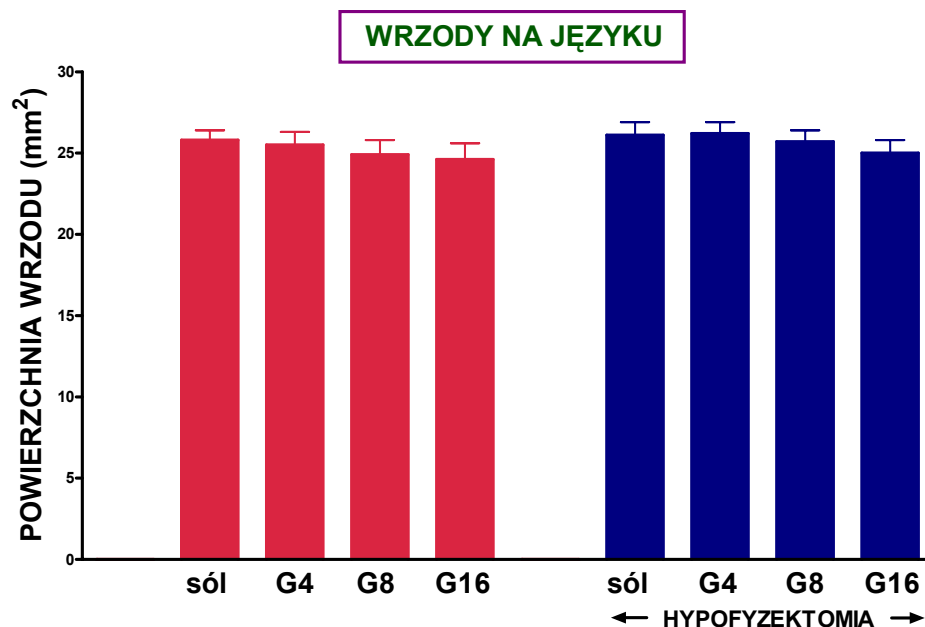
Po dwóch dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej języka, we wszystkich grupach zwierząt, który podawano sól fizjologiczną dochodziło do niewielkiego zmniejszenia powierzchni wrzodów, ale te efekty były statystycznie niezamienne (Ryc. 21 i Ryc. 22). U zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową dwudniowe podawanie greliny przyspieszało gojenie uszkodzeń błony



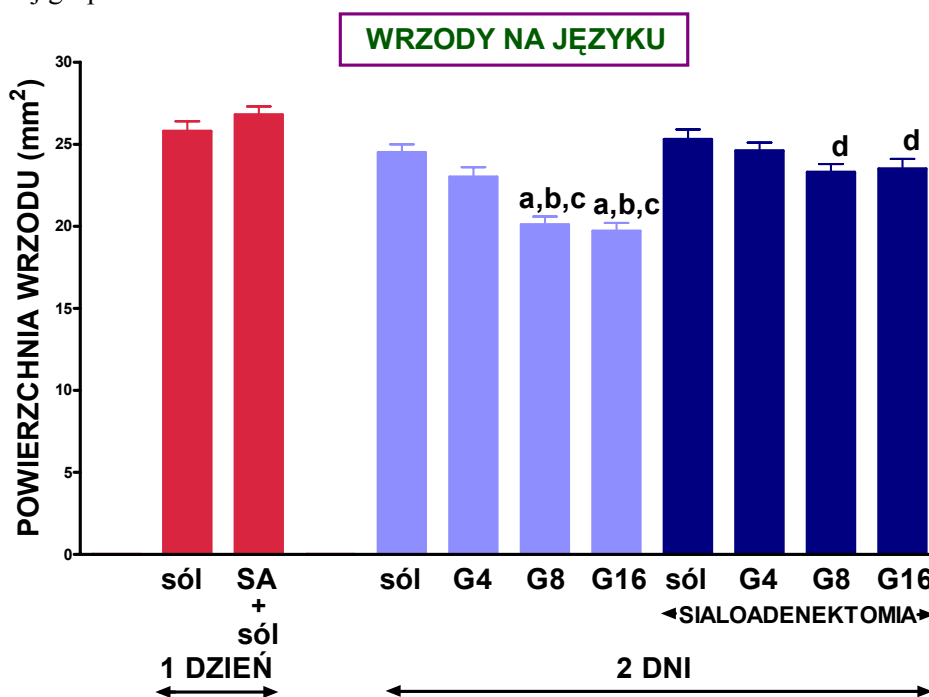
Ryc. 18. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej dziąsła po sześciu dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia - HP). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po sześciu dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętą przysadką (HP), którym podawano sól fizjologiczną.



Ryc. 19. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po jednym dniu od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie.



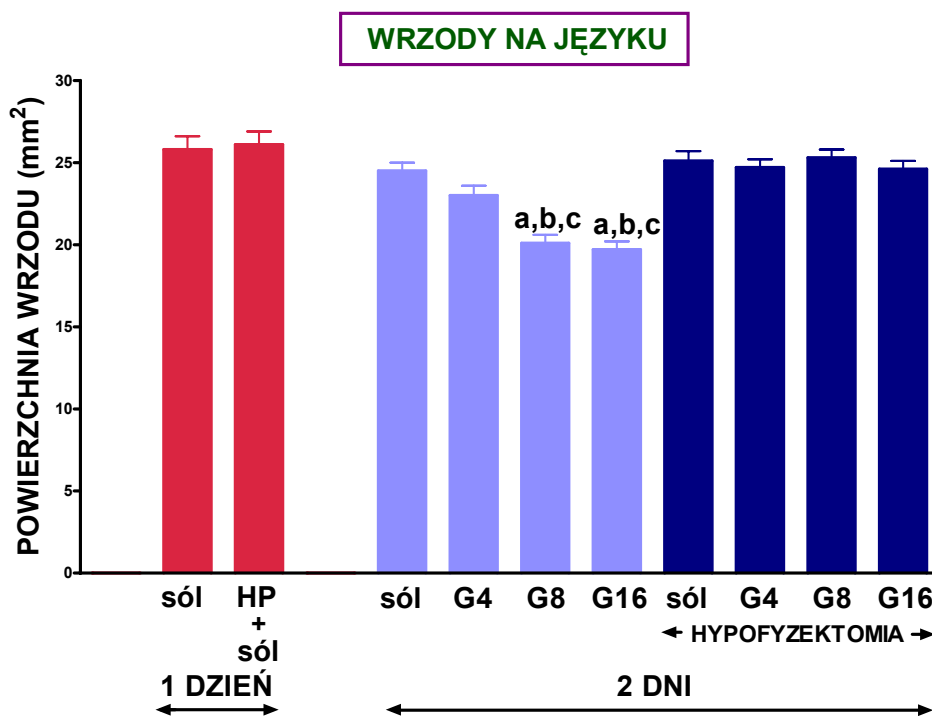
Ryc. 20. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po jednym dniu od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie.



Ryc. 21. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po dwóch dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia –SA). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po dwóch dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po dwóch dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną;

śluzowej języka i efekt ten był statystycznie znamieny po zastosowaniu greliny w dawce 8 i 16 nmol/kg/dawkę (Ryc. 21). Również w przypadku zwierząt z usuniętymi śliniankami i zachowaną przysadką, dwudniowe podawanie greliny przyspieszało gojenie wrzodów błony śluzowej języka. Efekt ten był statystycznie nieznamienny w porównaniu do wielkości wrzodów obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami po dwóch dniach podawania soli fizjologicznej. Niemniej jednak dwudniowe podanie greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowało, że powierzchnia wrzodów była znamienne mniejsza w porównaniu do wrzodów obserwowanych po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną (Ryc. 21).

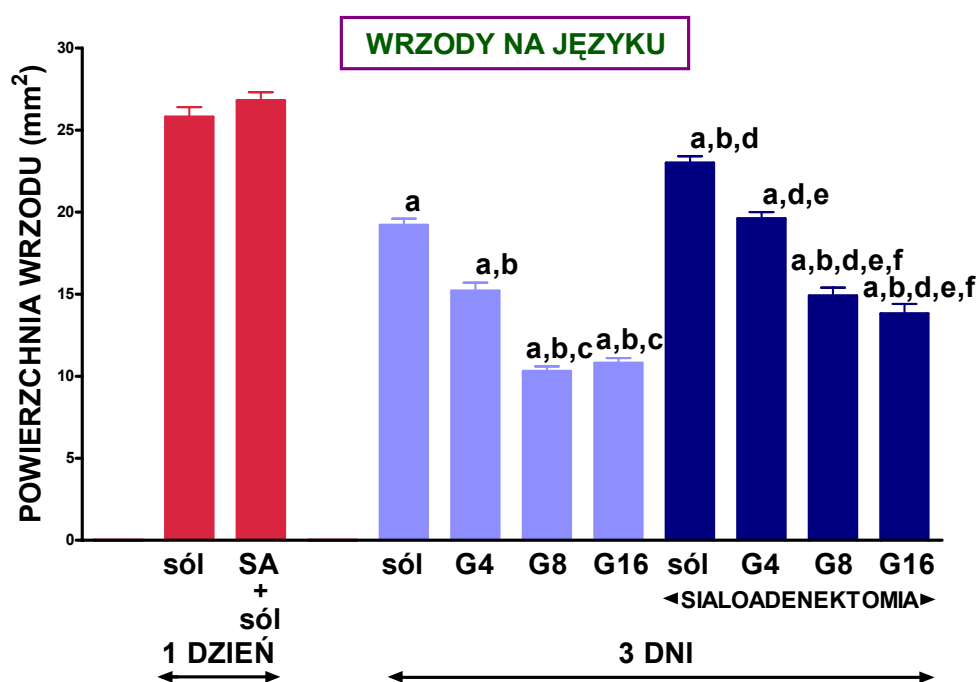
U zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, a zachowanymi śliniankami, wrzody błony śluzowej języka po dwóch dniach od ich wywołania wykazywały tendencję do zmniejszania swojej powierzchni (Ryc. 22). Efekt ten był jednak statystycznie



Ryc. 22. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po dwóch dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia - HP). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po dwóch dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po dwóch dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano G4.

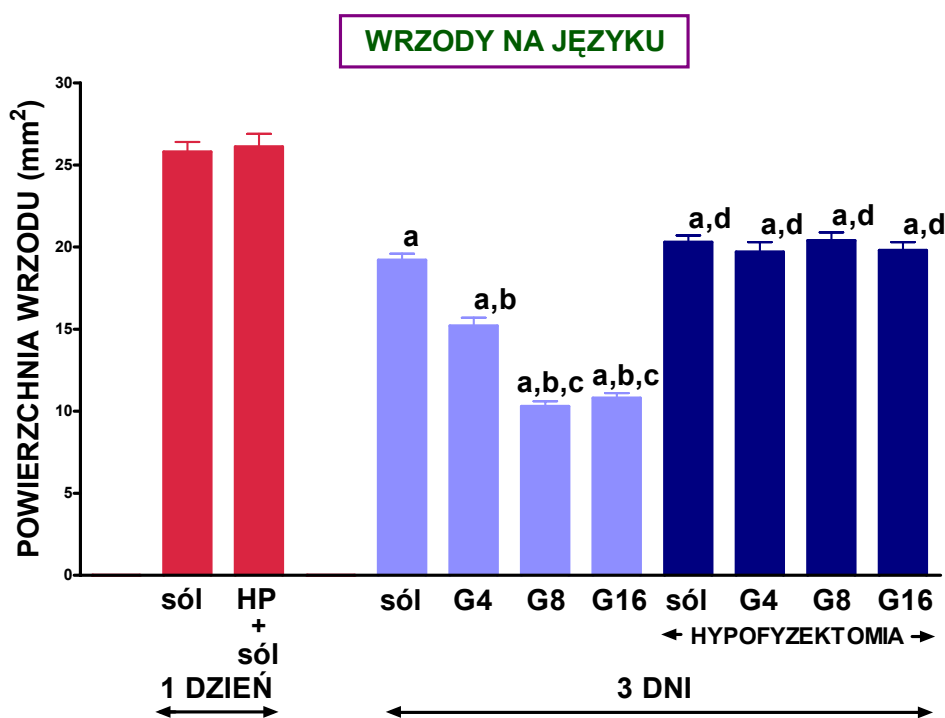
nieznamienny. Dwudniowe podawanie greliny w zastosowanych dawkach było bez wpływu na gojenie wrzodów błony śluzowej języka u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową.

Po trzech dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej języka w wyniku spontanicznego gojenia dochodziło we wszystkich grupach zwierząt do statystycznie znamiennego zmniejszenia powierzchni wrzodów błony śluzowej języka w stosunku do wielkości obserwowanej po jednym dniu od wywołania tych wrzodów (Ryc. 23 i Ryc. 24). Ponadto w grupie z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, podawanie greliny przyspieszało gojenie wrzodów błony śluzowej języka, a efekt podania greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę był znamienne większy niż dawki 4 nmol/kg/dawkę (Ryc. 23). W grupie zwierząt z usuniętymi śliniankami



Ryc. 23. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po trzech dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia –SA). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po trzech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po trzech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po trzech dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^f $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po trzech dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano G4.

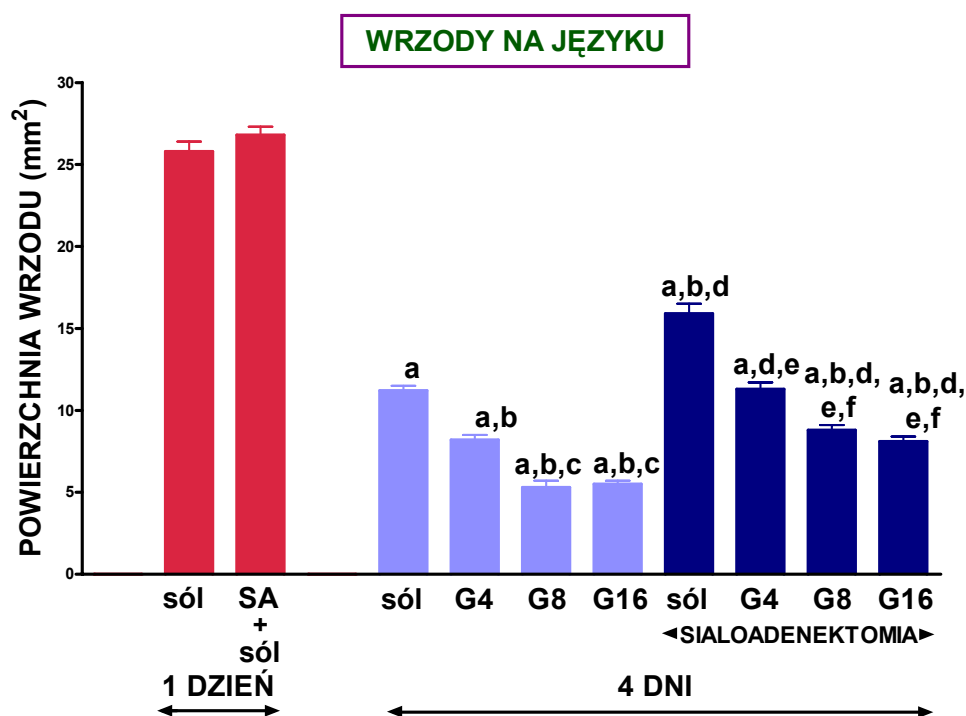
podżuchwowymi i podjęzykowymi, a zachowaną przysadką mózgową, którym podawano przez trzy dni sól fizjologiczną, obserwowano znamienne opóźnienie gojenia wrzodów błony śluzowej języka w stosunku do zwierząt z zachowanymi śliniankami (Ryc. 23). Podobnie jak w grupie z zachowanymi śliniankami, również w grupie zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi, a zachowaną przysadką mózgową dochodziło do przyspieszenia gojenia wrzodów po trzydniowym podawaniu greliny. Trzydniowe podawanie greliny w dawce 4 nmol/kg/dawkę powodowało, że powierzchnia wrzodów błony śluzowej języka u zwierząt z usuniętymi śliniankami malała do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną (Ryc. 23). Podanie greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowało znamienne lepsze efekty lecznicze, niż grelina podawana w dawce 4 nmol/kg/dawkę (Ryc. 23).



Ryc. 24. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po trzech dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofizektomia - HP). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po trzech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po trzech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętą przysadką (HP), którym podawano sól fizjologiczną.

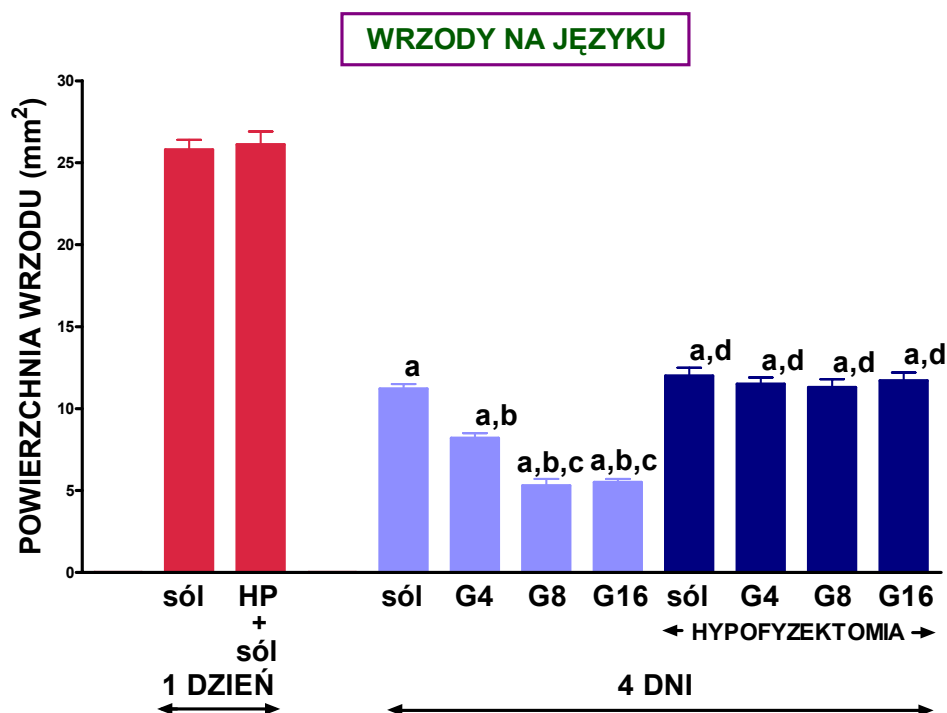
W przypadku wrzodów błony śluzowej języka wywołanych u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, którym podawano przez trzy dni sól fizjologiczna, powierzchnia tych wrzodów była zbliżona do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową (Ryc. 24). Trzydniowe podawanie greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę pozostawało bez wpływu na gojenia wrzodów błony śluzowej języka u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową (Ryc. 24).

Po czterech dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej języka, powierzchnia wrzodów u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, zmniejszyła się o 57% w stosunku do wielkości obserwowanej u tych zwierząt po jednym dniu od wywołania wrzodów (Ryc. 25).



Ryc. 25. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po czterech dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia –SA). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^f $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano G4.

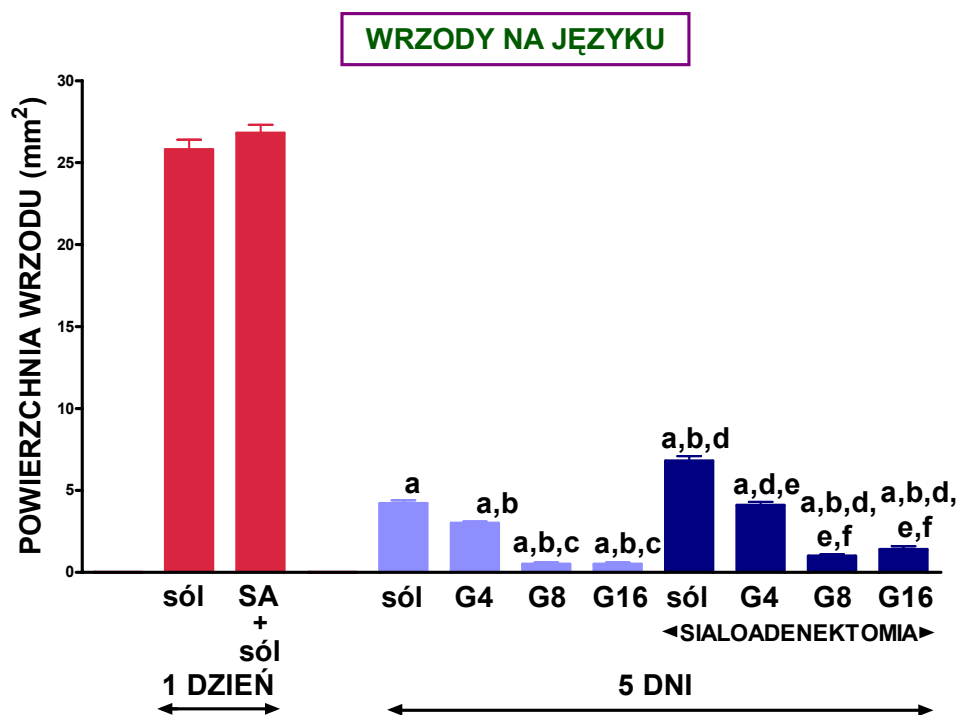
Czterodniowe podawanie greliny, u zwierząt z zachowanymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi oraz nienaruszoną przysadką mózgową, powodowało przyspieszenie gojenia wrzodów błony śluzowej języka i efekt ten był statystycznie znamienne dla wszystkich zastosowanych dawek greliny. Efekt leczniczy greliny podawanej w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę był znamienne większy niż efekt greliny podawanej w dawce 4 nmol/kg/dawkę (Ryc. 25). W grupie zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, czterodniowe podawanie greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowało ponad dwukrotne zmniejszenie powierzchni wrzodów błony śluzowej języka w porównaniu do zwierząt otrzymujących sól fizjologiczną. Po czterech dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej języka, utrzymywał się efekt znamienne spowolnienia gojenia tych wrzodów na skutek usunięcia ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych (Ryc. 25).



Ryc. 26. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po czterech dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofizektomia - HP). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po czterech dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętą przysadką (HP), którym podawano sól fizjologiczną.

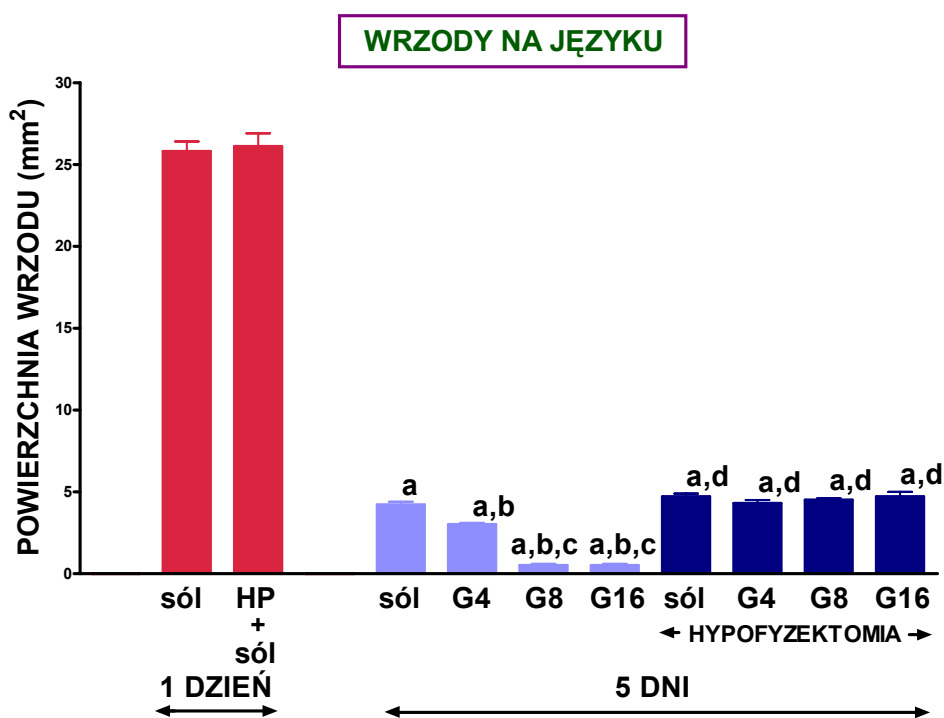
Czterodniowe podawanie greliny powodowało, w przypadku każdej zastosowanej dawki tego peptydu, znamienne statystycznie przyspieszenie gojenia wrzodów języka u zwierząt podlegających sialadenektomii. Dawki greliny 8 i 16 nmol/kg/dawkę wywoływały podobny efekt lecznicze i był on statystycznie znamienne większy od efektu greliny podawanej w dawce 4 nmol/kg/dawkę (Ryc. 25).

Po czterech dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej języka nie obserwowano znamiennego wpływu usunięcia przysadki mózgowej na dynamikę gojenia tych wrzodów (Ryc. 26). Jednak w przeciwieństwie do zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, u zwierząt po hypofyzektomii nie obserwowano leczniczego wpływu greliny w gojeniu wrzodów błony śluzowej języka (Ryc. 26).



Ryc. 27. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po pięciu dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialadenektomia –SA). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po pięciu dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po pięciu dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po pięciu dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^f $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po pięciu dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano G4.

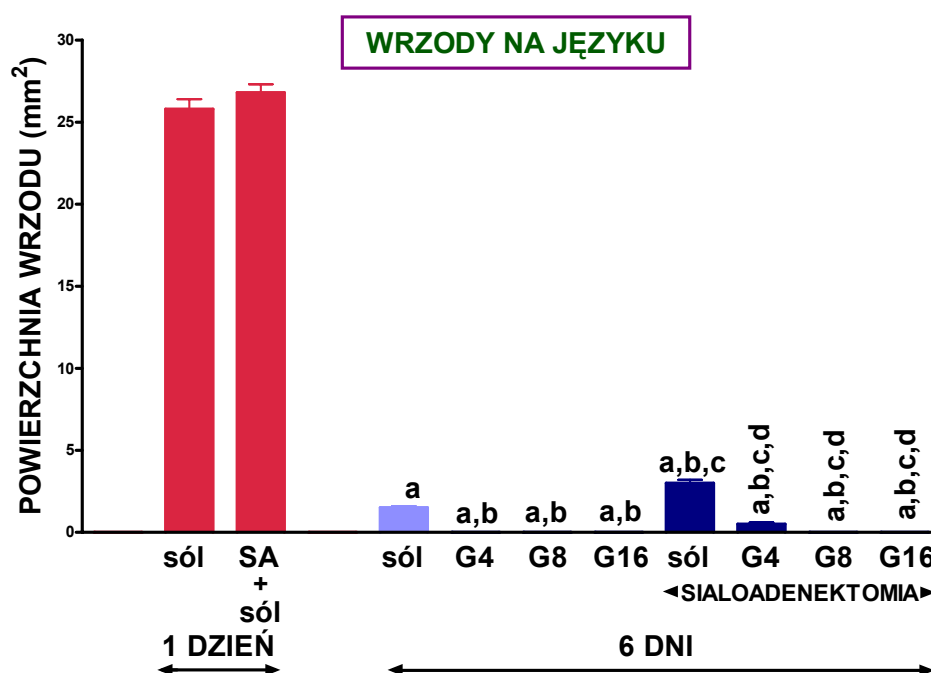
Po pięciu dniach od wywołania uszkodzeń błony śluzowej języka, powierzchnia wrzodów u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną malała do $4,2 \pm 0,2 \text{ mm}^2$ (Ryc. 27). Podawanie greliny znacząco przyspieszało ten proces. Najlepsze i podobne efekty lecznicze były obserwowane po grelinie podawanej w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę. Usunięcie ślinianek spowalniało gojenie wrzodów błony śluzowej języka, ale pomimo tego powierzchnia wrzodów, po pięciu dniach od ich wywołania, u zwierząt, którym podawano sól fizjologiczną malała do wartości $6,8 \pm 0,3 \text{ mm}^2$. U zwierząt po sialoadenektomii pięciodniowe podawanie greliny, we wszystkich zastosowanych dawkach, znacząco przyspieszało gojenie wrzodów błony śluzowej języka (Ryc. 27). Efekt leczniczy greliny podawanej w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę był silniej zaznaczony od efektu greliny podawanej w dawce 4 nmol/kg/dawkę.



Ryc. 28. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po pięciu dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofizektomia - HP). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po pięciu dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po pięciu dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętą przysadką (HP), którym podawano sól fizjologiczną.

Pięć dni po wywołaniu uszkodzeń błony śluzowej języka, wielkość wrzodów u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z usuniętą przysadką mózgową była zbliżona do powierzchni, jaką obserwowano u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z zachowaną przysadką mózgową (Ryc. 28). Hypofyzektomia powodowała jednak zniesienie leczniczego wpływu greliny na gojenie uszkodzeń błony śluzowej języka (Ryc. 28).

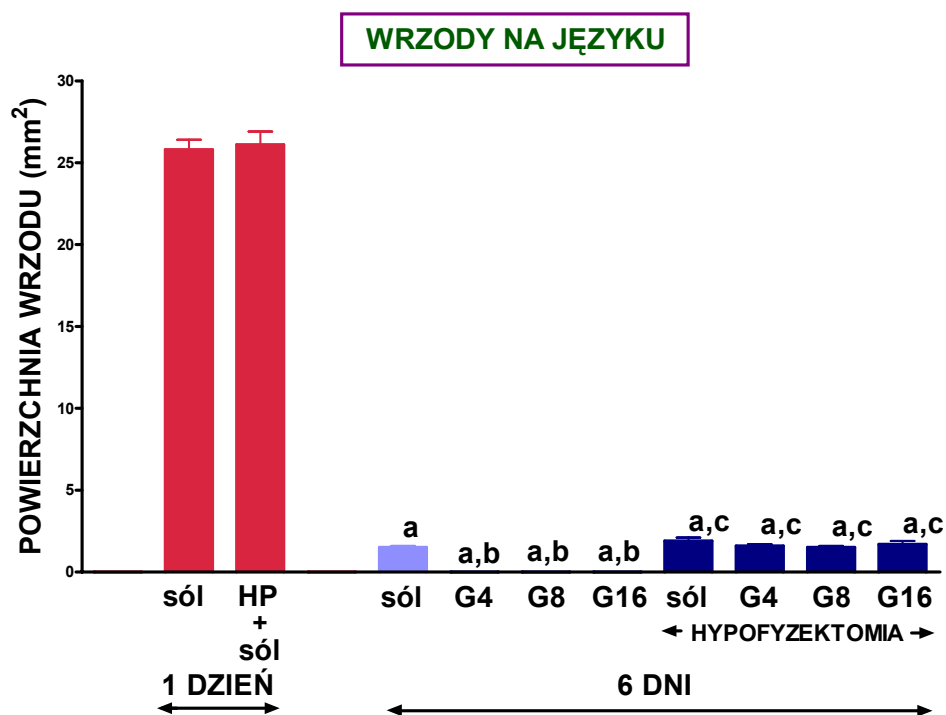
Po sześciu dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej języka dochodziło, u zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką mózgową, do niemal całkowitego wygojenia tych wrzodów w wyniku spontanicznej regeneracji (Ryc. 29). W przypadku każdej zastosowanej dawki, sześciodniowe podawanie greliny powodowało całkowite wygojenie uszkodzeń błony śluzowej języka u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową (Ryc. 29). Sialoadenektomia spowalniała gojenie wrzodów języka. Powierzchnia tych wrzodów, u kontrolnych zwierząt po



Ryc. 29. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po sześciu dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia –SA). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po sześciu dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po sześciu dniach od ich wywołania u zwierząt z usuniętymi śliniankami (SA), którym podawano sól fizjologiczną.

sialoadenektomi, po sześciu dniach od wywołania tych wrzodów, była dwa razy większa od powierzchni obserwowanej u zwierząt z zachowanymi śliniankami (Ryc. 29). U zwierząt po sialoadenektomii, sześciodniowe podawanie greliny znacząco przyspieszało gojenie wrzodów błony śluzowej języka. Grelina podawana w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowała całkowite wygojenie tych wrzodów (Ryc. 29).

U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt po hypofyzektomii, po sześciu dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej języka powierzchnia tych uszkodzeń zmniejszała się do $1,9 \pm 0,2 \text{ mm}^2$. Sześciodniowe podawanie greliny pozostawało bez wpływu na dynamikę gojenia wrzodów błony śluzowej języka u zwierząt pozbawionych przysadki mózgowej (Ryc. 30).

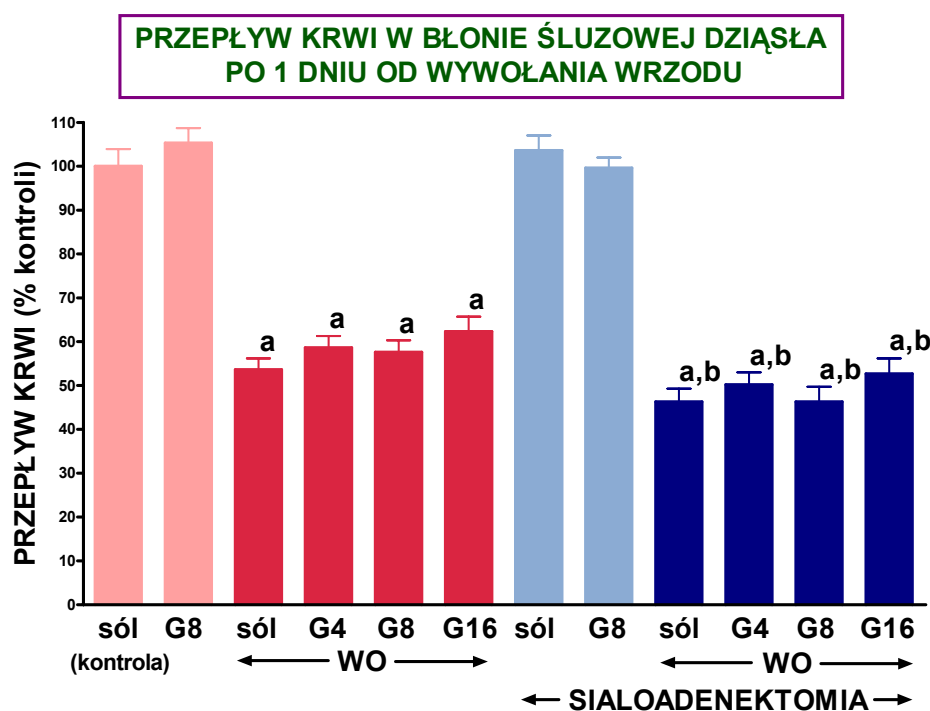


Ryc. 30. Wpływ podawania soli fizjologicznej (kontrola) lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na wielkość wrzodów błony śluzowej języka po sześciu dniach od wywołania tych wrzodów u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia - HP). Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po sześciu dniach od ich wywołania u zwierząt z zachowaną przysadką, którym podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wrzodów po jednym dniu od ich wywołania u zwierząt z usuniętą przysadką (HP), którym podawano sól fizjologiczną.

4.2. Wpływ podawania greliny na przepływ krwi w błonie śluzowej jamy ustnej

4.2.1. Wpływ podawania greliny na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła

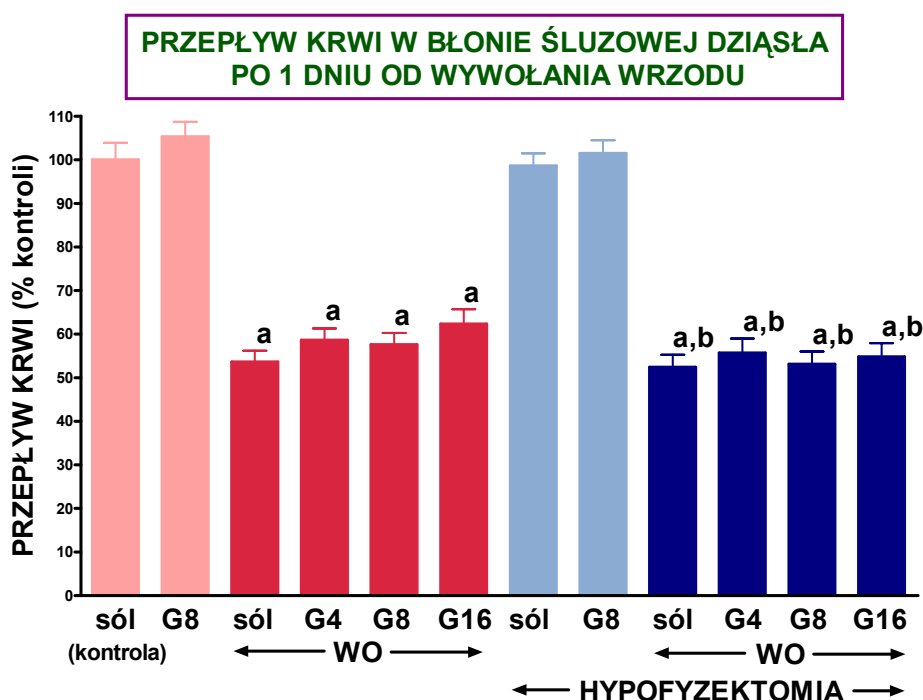
Przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła osiągał podobne wartości we wszystkich grupach zwierząt, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano uszkodzeń błony śluzowej i był zbliżony do poziomu obserwowanego u zwierząt z grupy kontrolnej, to jest zwierząt otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką bez wywoływania wrzodów błony śluzowej (Ryc. 31-42).



Ryc. 31. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po jednym dniu od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

Usunięcie ślinianek podżuchwowych, jak też usunięcie przysadki mózgowej, u zwierząt bez wywołania wrzodów, nie miało wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła. Również podawanie greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę u zwierząt, u którym nie wywoływano uszkodzeń błony śluzowej dziąsła pozostawało bez znamiennego wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła. Ten brak efektu podawania greliny występował niezależnie od tego czy zwierzęta miały zachowane czy, też usunięte ślinianki lub przysadkę mózgową; ponadto utrzymywał się przez wszystkie sześć dni podawania greliny (Ryc. 31-42).

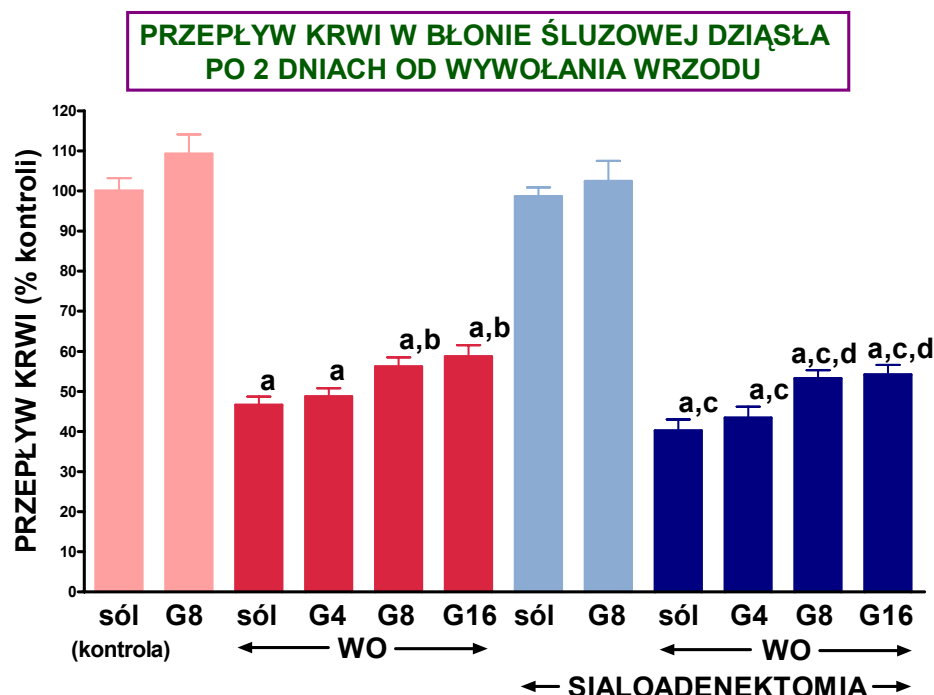
Po jednym dniu od wywołania wrzodów błony śluzowej dziąsła, przepływ krwi przez tę błonę, u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką mózgową, zmniejszył się znamienne o 46% w stosunku do wartości obserwowanej u zwierząt kontrolnych bez wywołania wrzodów błony śluzowej dziąsła (Ryc. 31). Jednodniowe podawanie greliny w każdej z zastosowanych dawek nie miało znamiennego statystycznie wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową



Ryc. 32. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po jednym dniu od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

dziaśła u zwierząt z zachowanymi śliniankami i wywołanym wrzodem błony śluzowej dziaśła. W przypadku otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt pozbawionych ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych, po jednym dniu od wywołania wrzodów błony śluzowej dziaśła, przepływ krwi w tej błonie śluzowej ulegał redukcji w stosunku do kontroli o 54%, a podawanie greliny w każdej z zastosowanych dawek było bez znamiennego wpływu na ten efekt (Ryc. 31). U zwierząt z usuniętą przysadką mózgową otrzymujących sól fizjologiczną, po jednym dniu od wywołania wrzodów przepływ krwi w błonie śluzowej dziaśła był zmniejszony o 48% w stosunku do zwierząt kontrolnych z zachowaną przysadką i bez wywoływania wrzodów (Ryc. 32). Jednodniowe podawanie greliny nie miało wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową dziaśła u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową i wywołanymi wrzodami (Ryc. 32).

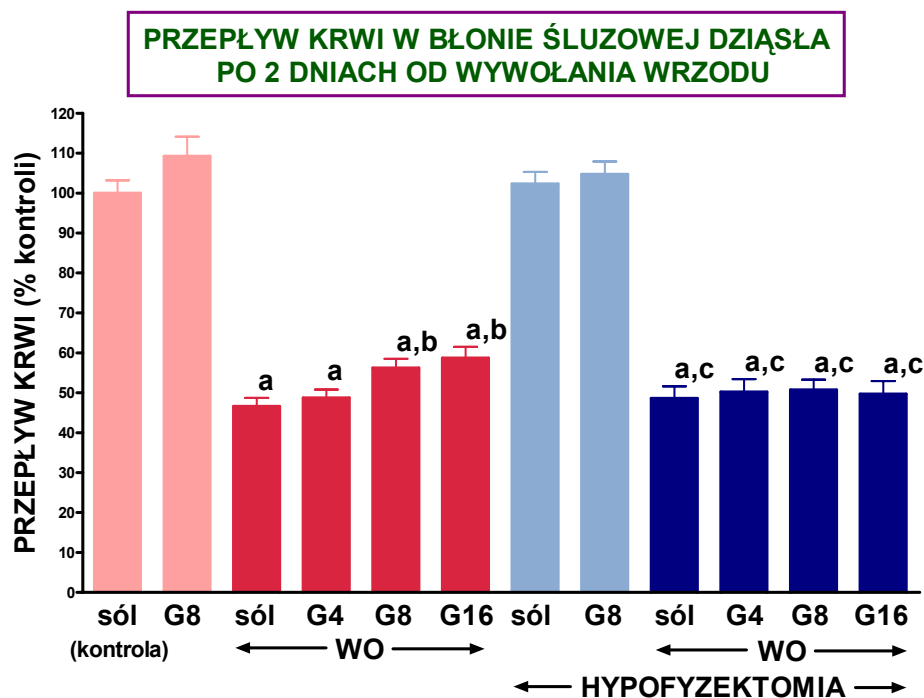
Po dwóch dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej dziaśła, u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, które otrzymywały sól fizjologiczną, przepływ krwi w błonie śluzowej dziaśła ulegał dalszemu ograniczeniu osiągając 47% wartości obserwowanej u zwierząt kontrolnych (Ryc. 33). U zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką mózgową oraz wywołanymi wrzodami dziaśła, dwudniowe podawanie greliny w dawce 4 nmol/kg/dawkę nie miało znamiennego wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową dziaśła (Ryc. 33). Natomiast dwudniowe podawanie, w tej grupie zwierząt, greliny w dawce 8 i 16 nmol/kg/dawkę powodowało podobne i znaczne zwiększenie przepływu krwi przez błonę śluzową dziaśła odpowiednio o 21 i 26% w stosunku do zwierząt bez podawania greliny (Ryc. 33). U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z usuniętymi śliniankami, dwa dni po wywołaniu wrzodów dziaśła, przepływ przez błonę śluzową dziaśła osiągał około 40% wartości obserwowanej u zwierząt z grupy kontrolnej (Ryc. 33). Grelina podawana przez dwa dni w dawce 4 nmol/kg/dawkę pozostawała bez wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową u zwierząt z usuniętymi śliniankami i wywołanymi wrzodami. Natomiast dwudniowe podawanie, w tej grupie zwierząt, greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowało znaczne statystycznie zwiększenie przepływu krwi przez błonę śluzową dziaśła o około 32 i 35% w stosunku do wartości obserwowanych u pozbawionych ślinianek zwierząt otrzymujących sól fizjologiczną, u których wywołano wrzody (Ryc. 33). W grupie z usuniętą przysadką mózgową, a zachowanymi śliniankami, dwa dni po wywołaniu wrzodów, przepływ krwi przez błonę



Ryc. 33. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po dwóch dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

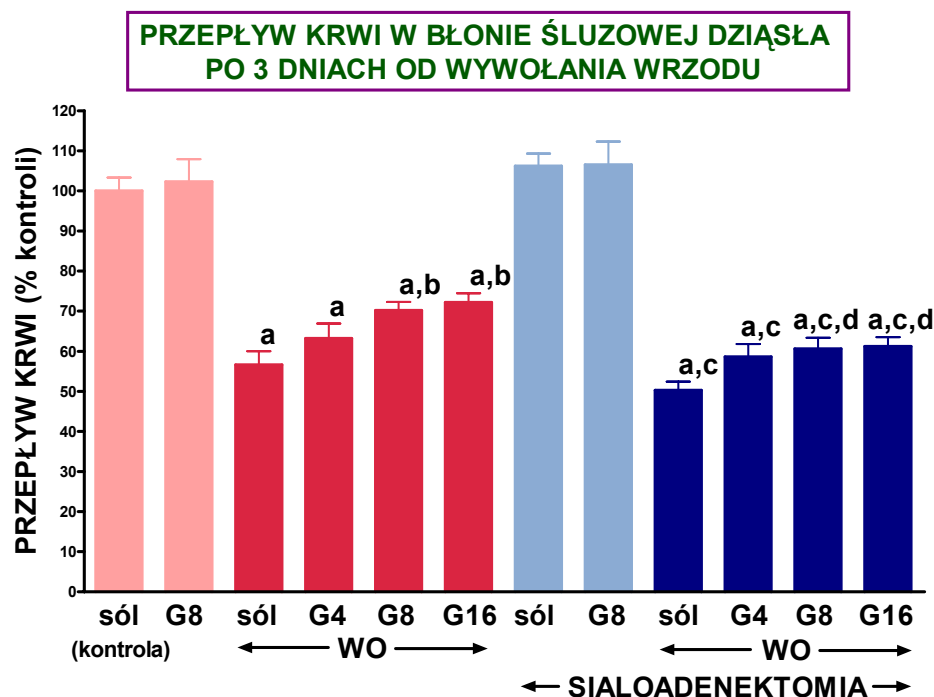
śluzową dziąsła u zwierząt otrzymujących sól fizjologiczną był obniżony o 51% w stosunku do wartości kontrolnej obserwowanej u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką mózgową, bez wywoływania wrzodów (Ryc. 34). Dwudniowe podawanie greliny, w każdej z zastosowanych dawek, było bez wpływu na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową i wywołaniem wrzodów błony śluzowej dziąsła (Ryc. 34).

U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką mózgową, trzy dni po wywołaniu wrzodów dziąsła, przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła ulegał pewnej poprawie w stosunku do wartości obserwowanej u tych zwierząt po jednym dniu od wywołania wrzodów osiągając 56,6% wartości kontrolnej (Ryc. 35). Trzydniowe podawanie greliny powodowało, u tych zwierząt,



Ryc. 34. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofizektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po dwóch dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO. poprawę przepływu krwi przez błonę śluzową dziąsła i efekt ten był statystycznie

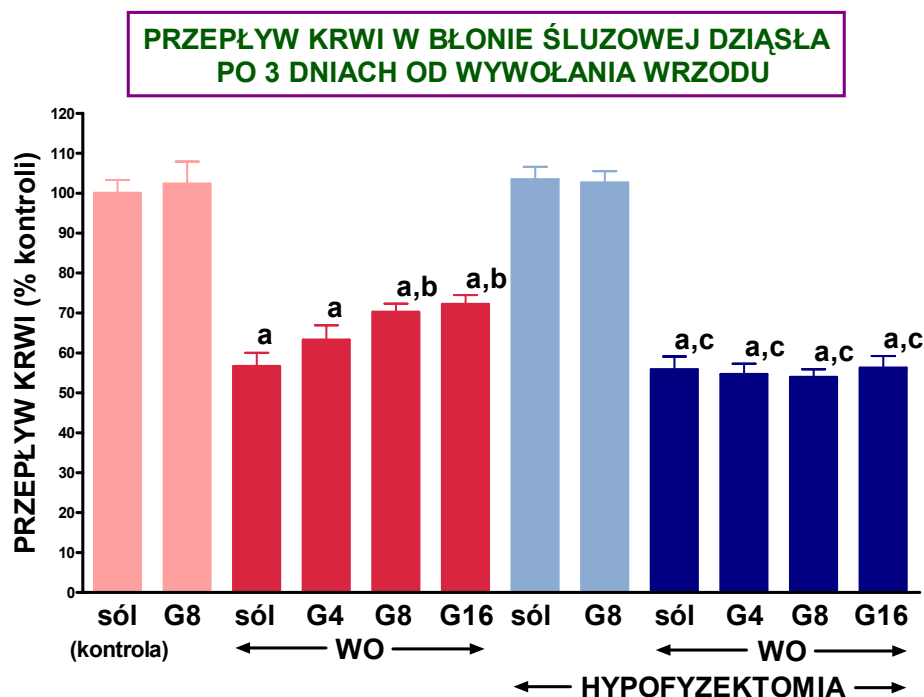
poprawę przepływu krwi przez błonę śluzową dziąsła i efekt ten był statystycznie znamieny w przypadku stosowania greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (Ryc. 35). U otrzymującymi sól fizjologiczną zwierząt z usuniętymi śliniankami, trzy dni po wywołaniu wrzodów błony śluzowej dziąsła, przepływ przez tą błonę stanowił około 50% wartości kontrolnej (Ryc. 35). Trzydniowe podawanie greliny w dawce 4 nmol/kg/dawkę było bez znamienego wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła u tych zwierząt. Natomiast grelina podawana przez trzy dni w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowała znamieną statystycznie poprawę przepływu krwi przez błonę śluzową dziąsła u zwierząt z wywołanymi wrzodami i usuniętymi śliniankami (Ryc. 35). U zwierząt z usuniętą przysadką, trzy dni po wywołaniu wrzodów dziąsła i podawaniu soli fizjologicznej, przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła osiągał około



Ryc. 35. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po trzech dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

56% wartości kontrolnej (Ryc. 36). Trzydniowe podawanie greliny nie miało wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową i wywołanymi wrzodami błony śluzowej dziąsła (Ryc. 36).

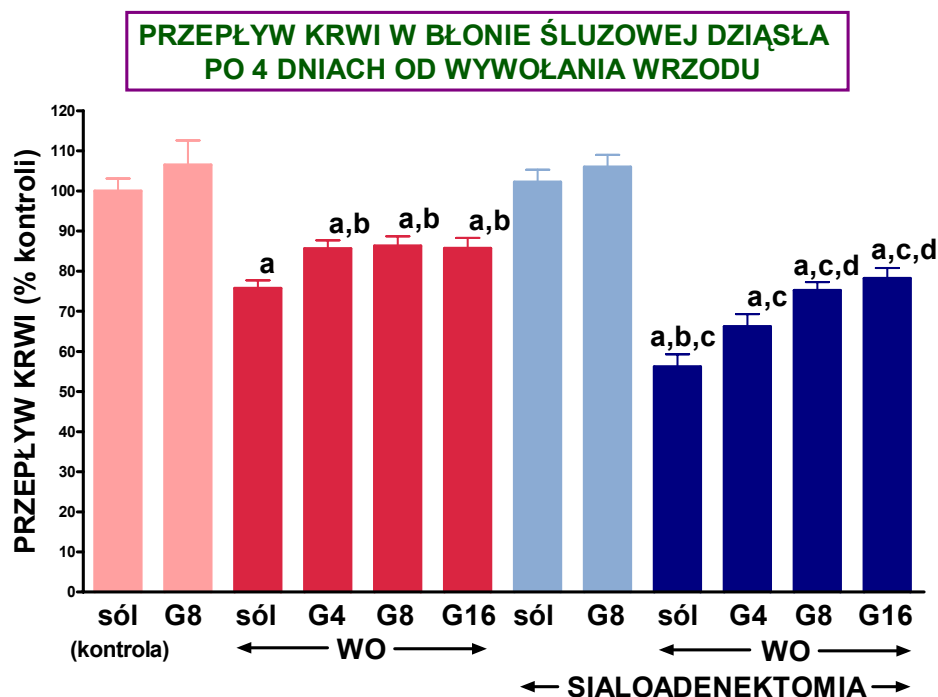
Cztery dni po wywołaniu wrzodów błony śluzowej dziąsła, przepływ krwi przez tę błonę u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową ulegał dalszej poprawie i osiągnął 75,7% wartości kontrolnej (Ryc. 37). Podawanie greliny, we wszystkich zastosowanych dawkach, statystycznie znamienne i w podobnym stopniu zwiększało ten efekt (Ryc. 37). U zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi, cztery dni po wywołaniu wrzodów dziąsła i podawaniu soli fizjologicznej, przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła osiągnął wartość 56,2% wartości kontrolnej, i była ona statystycznie niższa niż u



Ryc. 36. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po trzech dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

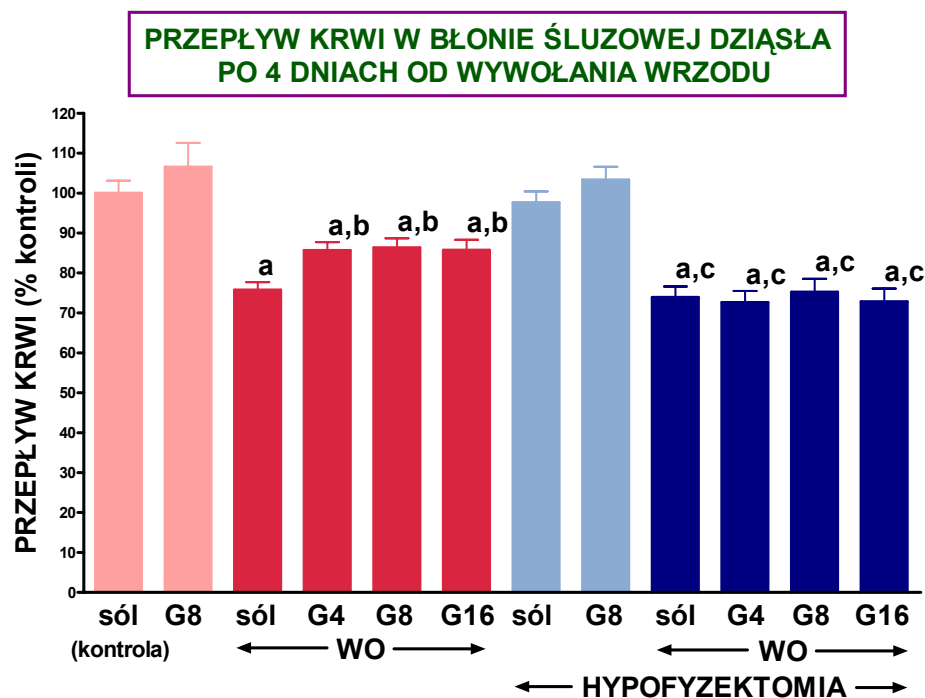
zwierząt z zachowanymi śliniankami w tym samym okresie obserwacji (Ryc. 37). Czterodniowe podawanie greliny, po wywołaniu wrzodów dziąsła u zwierząt z suniętymi śliniankami, powodowało poprawę przepływu krwi przez błonę śluzową dziąsła i efekt ten był statystycznie znamieny po zastosowaniu greliny w dawce 8 i 16 nmol/kg/dawkę (Ryc. 37). U zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, cztery dni po wywołaniu wrzodów błony śluzowej dziąsła i po podawaniu soli fizjologicznej, przepływ krwi osiągał około 74% wartości kontrolnej (Ryc. 38). Podawanie greliny było bez wpływu na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt pozbawionych przysadki mózgowej (Ryc. 38).

Po pięciu dniach od wywołania wrzodów dziąsła, przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła, u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką mózgową ulegał dalszej poprawie osiągając prawie 87%



Ryc. 37. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dżiąsła u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywołymano lub wywołymano wrzody octowe (WO). Obserwacja po czterech dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywołymano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywołymano WO; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

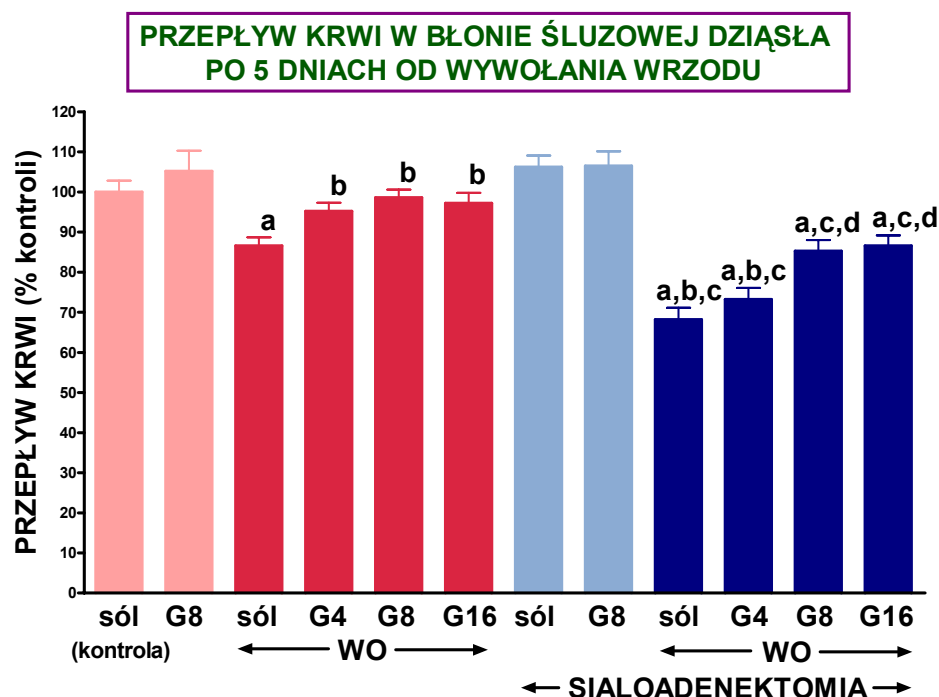
wartości kontrolnej (Ryc. 39). Pięćdniowe podawanie greliny, w każdej z zastosowanych dawek, powodowało podobną i statystycznie znamienne poprawę przepływu przez błonę śluzową w tej grupie zwierząt (Ryc. 39). Również u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z usuniętymi śliniankami, dochodziło, po pięciu dniach od wywołania wrzodów, do dalszej poprawy przepływu krwi przez błonę śluzową dżiąsła. Efekt ten był jednak znamienne słabszy niż u zwierząt z zachowanymi śliniankami. Pięćdniowe podawanie greliny, po wywołaniu wrzodów dżiąsła zwiększało przepływ krwi przez błonę śluzową dżiąsła u zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi. Efekt ten był statystycznie znamieny, gdy stosowano grelinę w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (Ryc. 39). W przypadku zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, przepływ przez błonę śluzową dżiąsła,



Ryc. 38. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofizektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po czterech dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

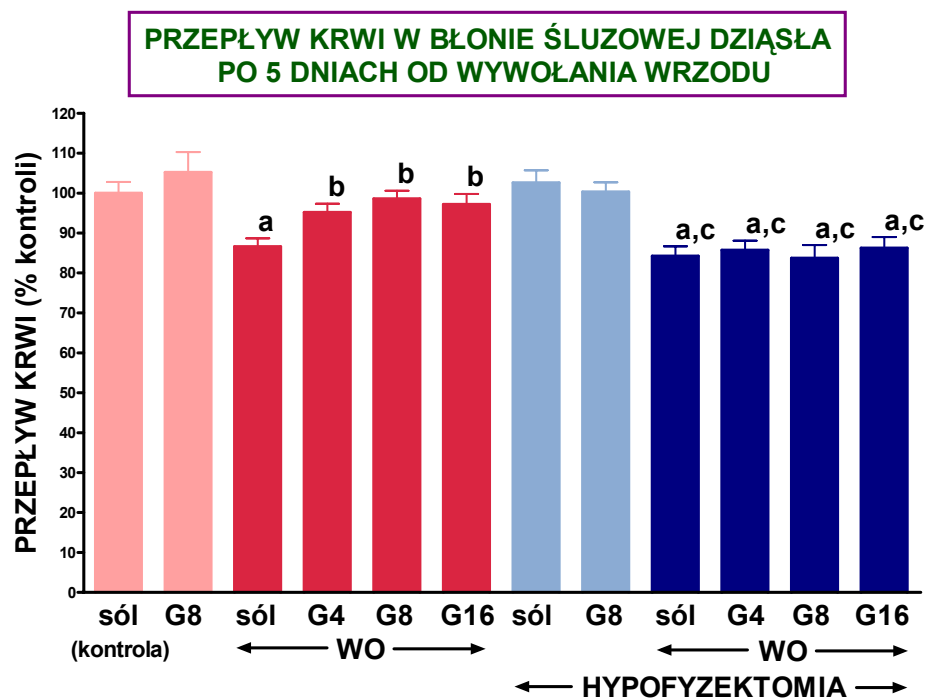
po pięciu dniach od wywołania wrzodów, ulegał dalszej poprawie i osiągał wartości zbliżone do wartości obserwowanych w grupie zwierząt z zachowaną przysadką mózgową (Ryc. 40). Pięciodniowe podawanie greliny w zastosowanych dawkach było bez wpływu na przepływ krwi u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową i wywołanymi wrzodami dziąsła (Ryc. 40).

Po sześciu dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej dziąsła, przepływ krwi u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową uzyskiwał niemal wartości kontrolne (Ryc. 41). Sześciodniowe podawanie greliny, we wszystkich stosowanych dawkach, znamienne zwiększało ten przepływ. Ponadto podanie greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowało, że przepływ przez błonę śluzową dziąsła był statystycznie znamienne większy niż w grupie kontrolnej bez wywoływania wrzodów. U zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi, sześć dni po



Ryc. 39. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po pięciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

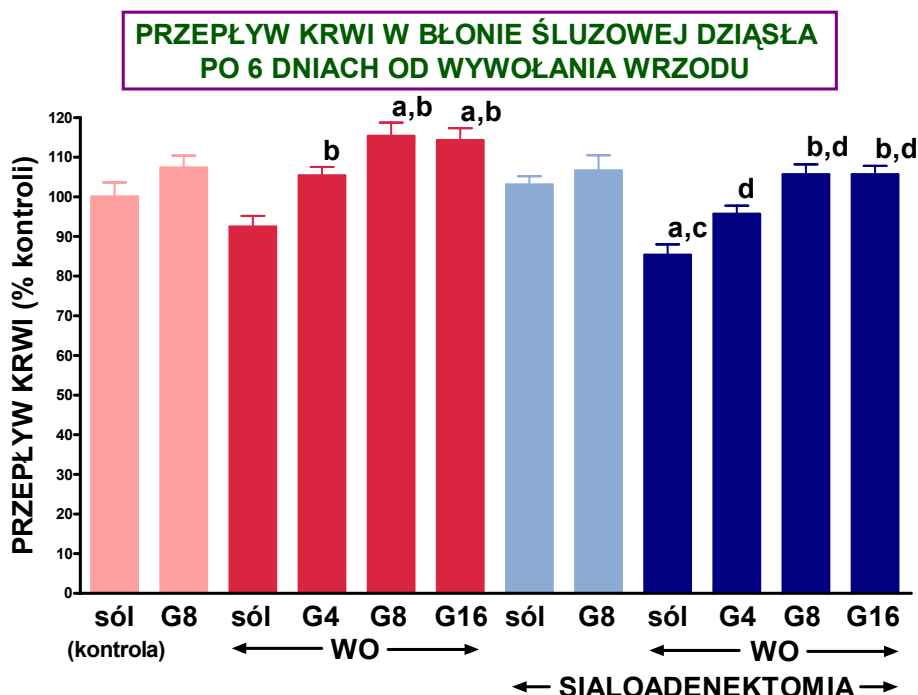
wywołaniu wrzodów i podawaniu soli fizjologicznej przepływ krwi przez błonę śluzową ulegał poprawie, ale był ciągle mniejszy niż w grupie kontrolnej (Ryc. 41). Sześciodniowe podawanie greliny dodatkowo i znamienne zwiększało przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła w tej grupie zwierząt (Ryc. 41). U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, sześć dni po wywołaniu wrzodów błony śluzowej dziąsła, przepływ krwi przez tę błonę śluzową był zbliżony do wartości obserwowanej u zwierząt w grupie kontrolnej (Ryc. 42). Podawanie greliny przez sześć dni po wywołaniu wrzodów, pozostawało bez wpływu na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową (Ryc. 42).



Ryc. 40. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po pięciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

4.2.2. Wpływ podawania greliny na przepływ krwi w błonie śluzowej języka

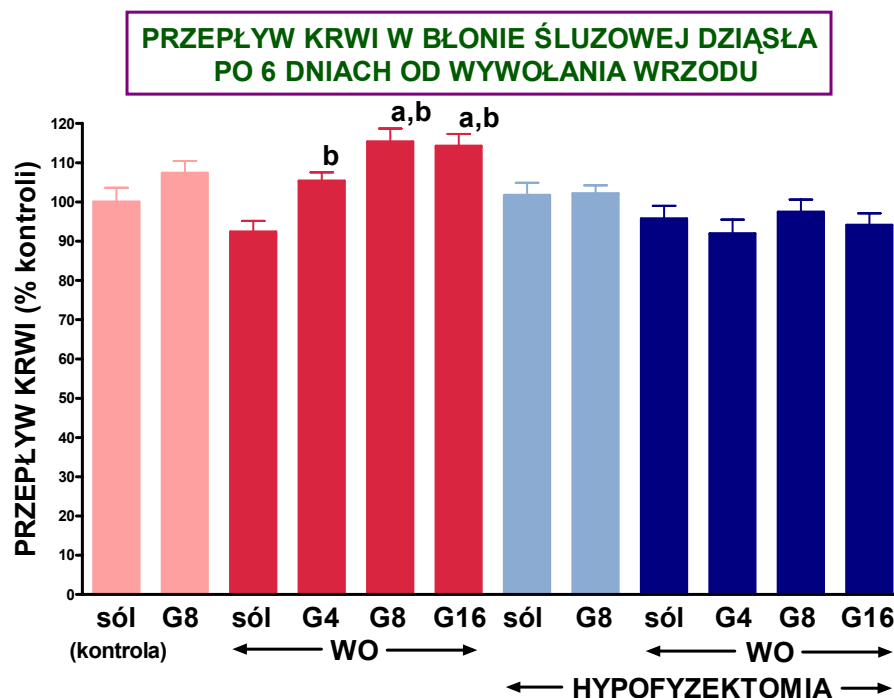
Grupa zwierząt z zachowanymi śliniankami podżuchwowymi i nienaruszoną przysadką mózgową, bez wywoływania wrzodów błony śluzowej i otrzymująca dootrzewnowo sól fizjologiczną została uznana grupą kontrolną i wartość przepływu krwi przez błonę śluzową języka w tej grupie przyjęto jako 100% (Ryc. 43). Podobne wartości przepływu krwi w błonie śluzowej języka były obserwowane w pozostałych grupach zwierząt bez wywoływania wrzodów błony śluzowej, to jest w grupie z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi, a zachowaną przysadką mózgową, oraz w grupie z usuniętą przysadką mózgową, a zachowanymi śliniankami podżuchwowymi. Ten brak efektu sialadenektomii lub hypofyzektomii na przepływ krwi przez błonę śluzową języka był widoczny, u zwierząt bez wywoływania wrzodów, przez cały okres



Ryc. 41. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

obserwacji (Ryc. 43-54). Również we wszystkich grupach zwierząt, bez wywoływania wrzodów błony śluzowej języka, podawanie greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę nie miało statystycznie znamiennego wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową języka (Ryc. 43-54).

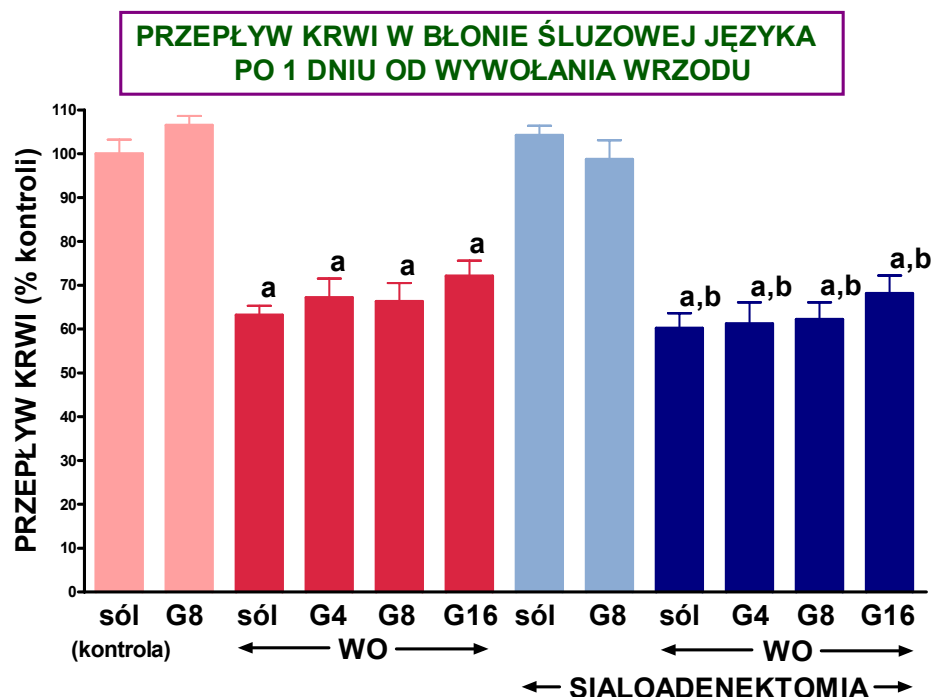
U zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką mózgową, które otrzymywały dootrzewnowo sól fizjologiczną, jeden dzień po wywołaniu wrzodów języka, przepływ krwi przez błonę śluzową języka był zmniejszony o około 37% w stosunku do wartości obserwowanych u zwierząt kontrolnych (Ryc. 43). Jednodniowe podawanie greliny, w zastosowanych dawkach, nie miało znamiennego wpływu na przepływ krwi w błonie śluzowej języka w tej grupie zwierząt. U zwierząt pozbawionych ślinianek, po upływie jednego dnia od wywołania wrzodów języka, przepływ krwi przez błonę śluzową



Ryc. 42. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

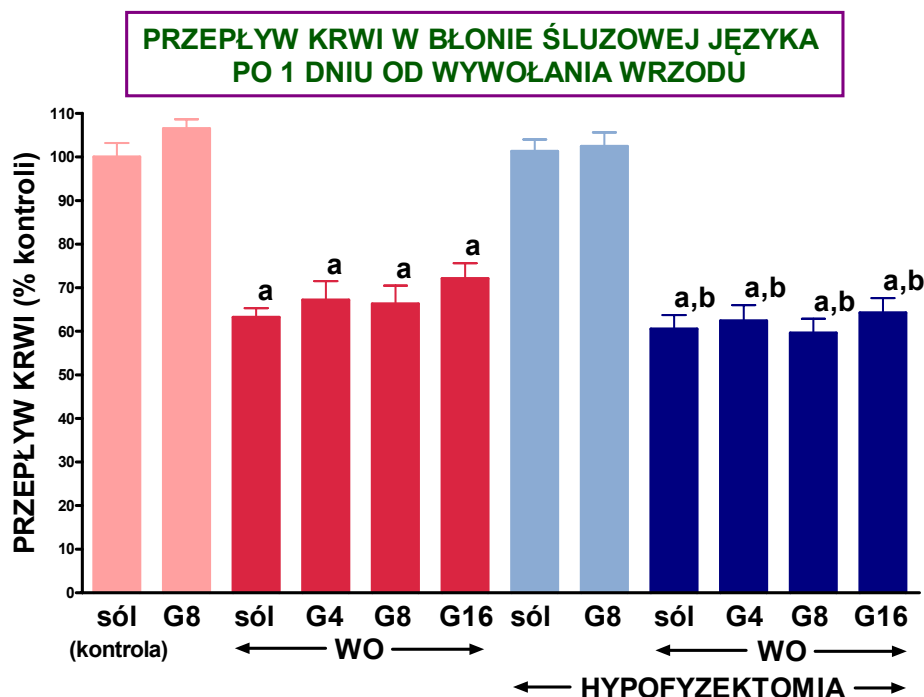
języka ulegał zmniejszeniu w stosunku do wartości kontrolnych o 40%, a jednodniowe podawanie greliny pozostawało bez znamiennej zmiany na tę wartość (Ryc. 43). U zwierząt pozbawionych przysadki mózgowej, jeden dzień po wywołaniu wrzodów błony śluzowej języka, przepływ krwi przez tę błonę był o około 40% mniejszy w stosunku do wartości kontrolnych (Ryc. 44). Jednodniowe podawanie greliny, w każdej z zastosowanych dawek, było bez wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową u zwierząt tej grupy (Ryc. 44).

Dwa dni po wywołaniu wrzodów języka, u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z nienaruszonymi śliniankami i zachowaną przysadką mózgową, przepływ krwi przez błonę śluzową języka osiągał wartość 62,2% wartości kontrolnej (Ryc. 45). W tej grupie zwierząt, dwudniowe podawanie greliny w dawce 4 nmol/kg/dawkę wykazywało tendencję do zwiększenia przepływu krwi przez błonę śluzową języka, ale efekt ten był statystycznie nieznamiennej. Grelina podawana przez dwa dni w dawce 8



Ryc. 43. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po jednym dniu od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

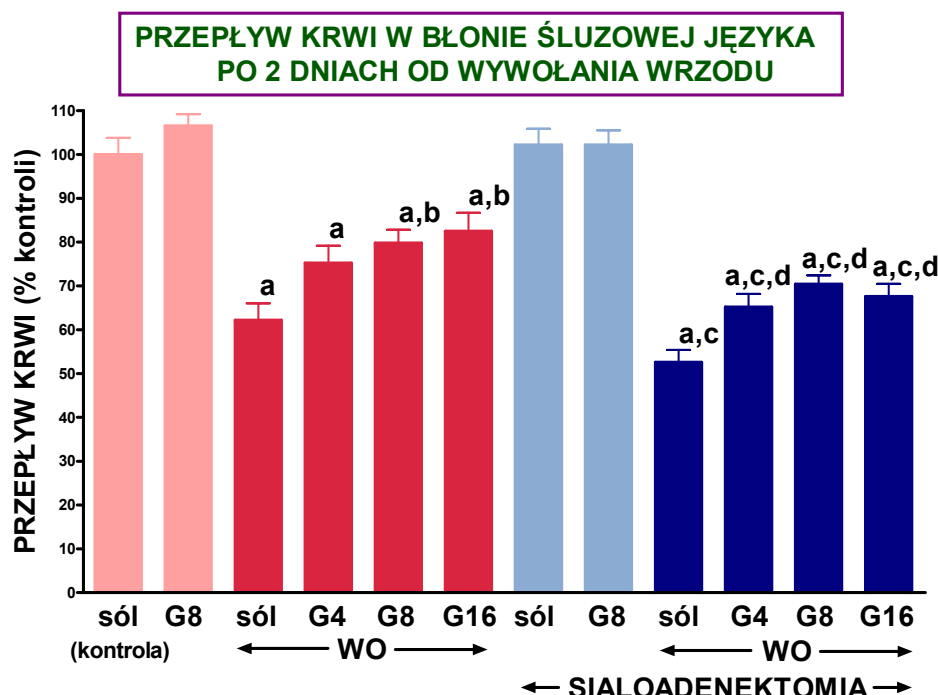
lub 16 nmol/kg/dawkę powodowała częściową, lecz statystycznie znamienne poprawę przepływu krwi przez błonę śluzową języka u zwierząt z wywołanym wrzodem języka i zachowaną przysadką mózgową oraz nienaruszonymi śliniankami (Ryc. 45). W grupie zwierząt otrzymujących sól fizjologiczną, którym usunięto ślinianki, dwa dni po wywołaniu wrzodów języka, przepływ krwi przez błonę śluzową języka osiągał prawie 53% wartości obserwowanej w grupie kontrolnej. Dwudniowe podawanie greliny częściowo poprawiało przepływ krwi w błonie śluzowej języka u tych zwierząt i efekt ten był statystycznie znamienne dla wszystkich trzech zastosowanych dawek greliny (Ryc. 45). Dwa dni po wywołaniu wrzodów języka, przepływ krwi przez błonę śluzową języka, w otrzymującej sól fizjologiczną grupie zwierząt po hypofyzektomii, był znamienne statystycznie zmniejszony i uzyskiwał 60% wartości obserwowanej w grupie kontrolnej (Ryc. 46). Dwudniowe podawanie greliny, w każdej z zastosowanych dawek, pozostawało bez wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła w tej



Ryc. 44. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po jednym dniu od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

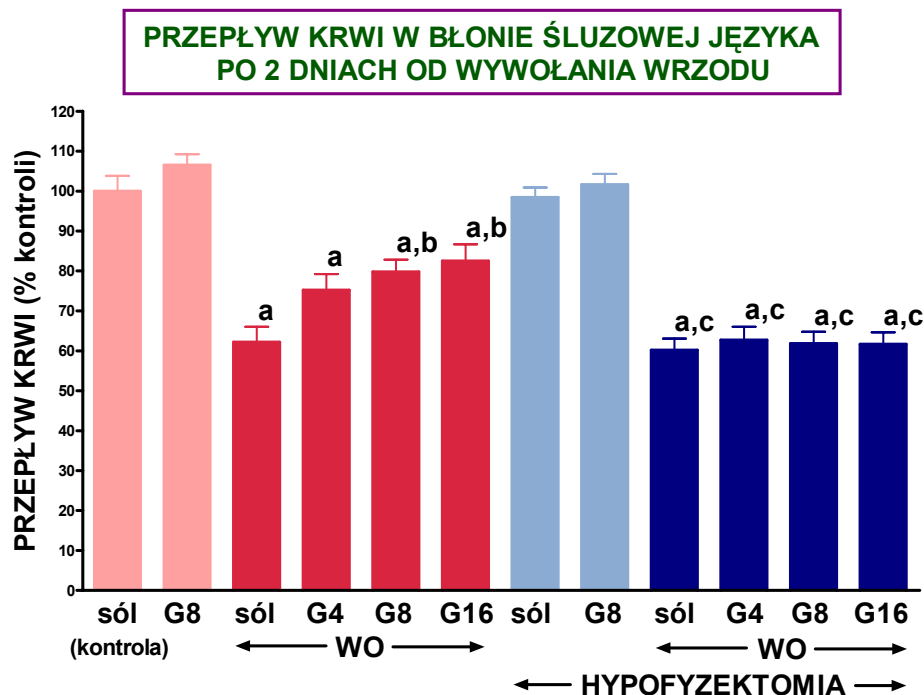
grupie zwierząt (Ryc. 46).

Trzy dni po wywołaniu wrzodów języka, przepływ krwi przez błonę śluzową języka u zwierząt z nienaruszonymi śliniankami i przysadką mózgową ulegał spontanicznej poprawie osiągając około 73% wartości kontrolnej (Ryc. 47). W tej grupie zwierząt, trzydniowe podawanie greliny powodowało częściowe odwrócenie spowodowanego wywołaniem wrzodów ograniczenia przepływu krwi przez błonę śluzową języka i efekt ten był znamieny statystycznie dla dawki greliny wynoszącej 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (Ryc. 47). W grupie zwierząt po sialadenektomii otrzymujących sól fizjologiczną, przepływ krwi przez błonę śluzową języka, trzy dni po wywołaniu wrzodów języka, wynosił około 62% wartości kontrolnej i był statystycznie znamienie mniejszy niż w analogicznej grupie z zachowanymi śliniankami. Trzydniowe podawanie greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowało częściową, lecz znamieną poprawę przepływu krwi u zwierząt po sialadenektomii



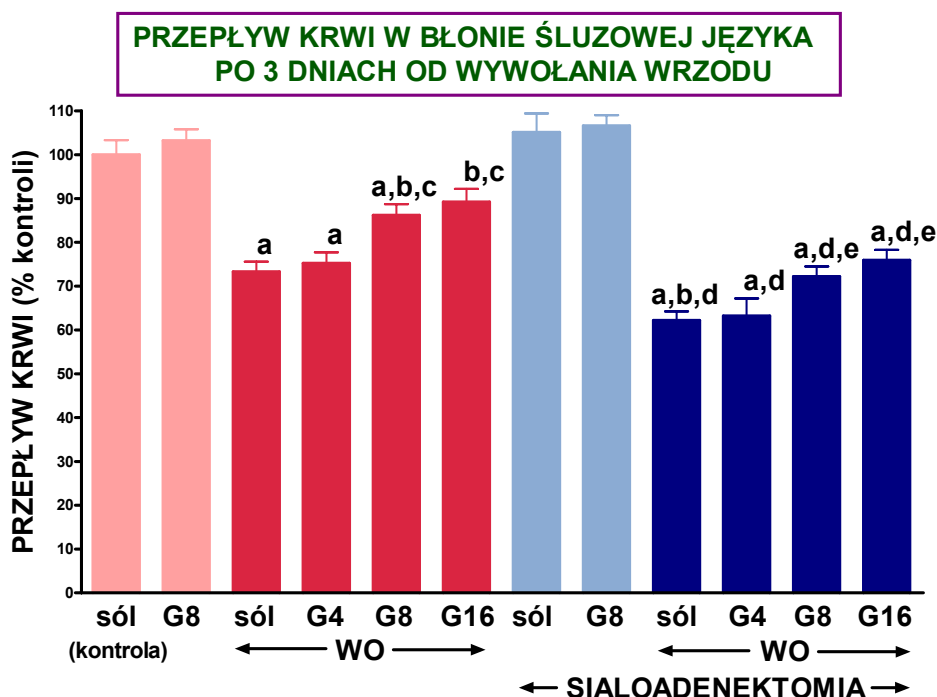
Ryc.45. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po dwóch dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

(Ryc. 47). Trzy dni po wywołaniu wrzodów języka, u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt po hypofyzektomii, przepływ krwi przez błonę śluzową języka osiągał podobne wartości jak w grupie z zachowaną przysadką mózgową i nienaruszonymi śliniankami, gdy porównamy obserwacje dokonane w tym samym okresie po wywołaniu wrzodów języka (Ryc. 48). Jednak, w przeciwieństwie do grupy z zachowaną przysadką, trzydniowe stosowanie greliny u zwierząt po hypofyzektomii i wywołanymi wrzodami, nie miało wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową języka (Ryc. 48).



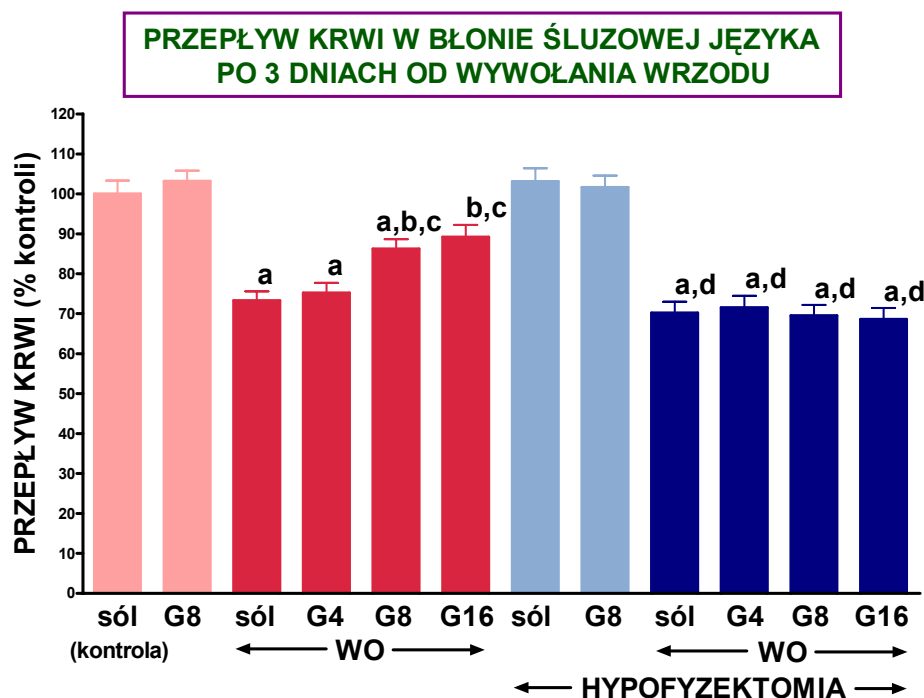
Ryc. 46. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po dwóch dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

W grupie z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, po czterech dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej języka przepływ krwi przez tę błonę, u zwierząt otrzymujących sól fizjologiczną, ulegał dalszej poprawie i osiągał 83% wartości kontrolnej (Ryc. 49). Czterodniowe podawanie greliny przyspieszało ten proces; w przypadku greliny podawanej w dawce 8 lub 18 nmol/kg/dawkę efekt ten uzyskiwał znamienność statystyczną. U zwierząt po sialadenektomii otrzymujących przez cztery dni po wywołaniu wrzodów języka sól fizjologiczną, przepływ krwi przez błonę śluzową osiągał około 75% wartości kontrolnej i był mniejszy niż w analogicznym okresie w grupie z zachowanymi śliniankami. Różnica ta jednak nie była statystycznie znamienna (Ryc. 49). Czterodniowe podawanie greliny, po wywołaniu



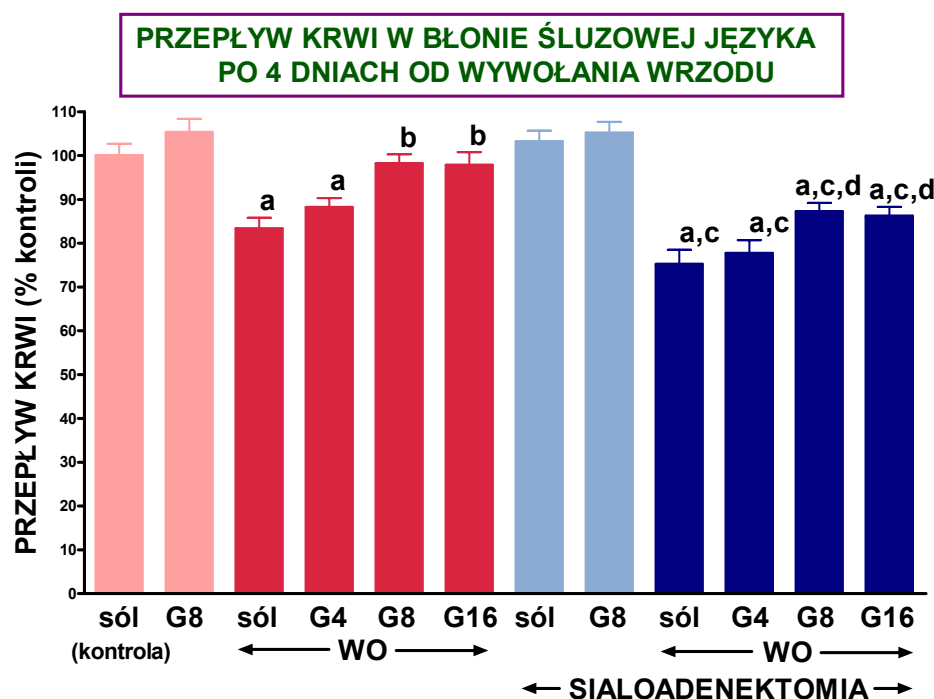
Ryc. 47. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po trzech dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

wrzodów języka, u zwierząt po sialoadenektomii poprawiało przepływ krwi w błonie śluzowej języka. Efekt ten był statystycznie znamieny i o zbliżonym nasileniu, gdy stosowano grelinę w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (Ryc. 49). U zwierząt po hypofyzektomii, po czterech dniach od wywołania wrzodów języka, przepływ krwi w grupie otrzymującej sól fizjologiczną wynosił 80,5% wartości kontrolnej (Ryc. 50). Czterodniowe podawanie greliny, w zastosowanych dawkach pozostawało bez wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową języka u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową (Ryc. 50).



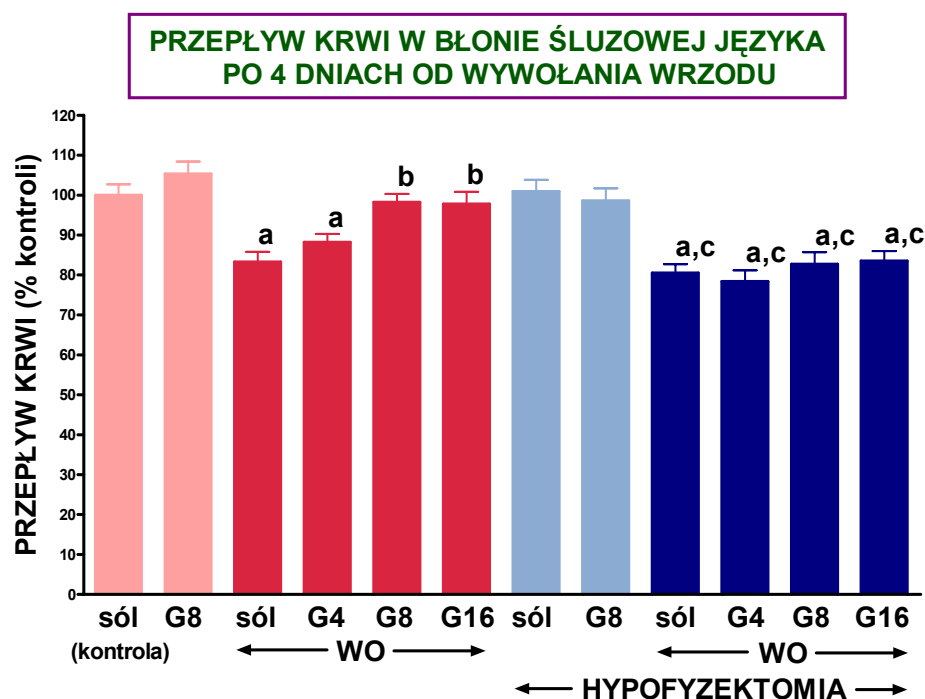
Ryc. 48. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po trzech dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

Po pięciu dniach od wywołania wrzodów błony śluzowej języka, przepływ krwi przez tę błonę u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową osiągał wartości zbliżone do wartości kontrolnych (Ryc. 51). Pięciodniowe podawanie greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowało statystycznie znaczne zwiększenie przepływu krwi przez błonę śluzową języka powyżej wartości kontrolnej. Pięć dni po wywołaniu wrzodów, wzrastał również przepływ krwi przez błonę śluzową języka u zwierząt po sialoadenektomii, ale efekt ten był statystycznie mniejszy niż w analogicznym okresie u zwierząt z zachowanymi śliniankami. Uzyskana wartość przepływu krwi była też mniejsza od wartości obserwowanej u zwierząt



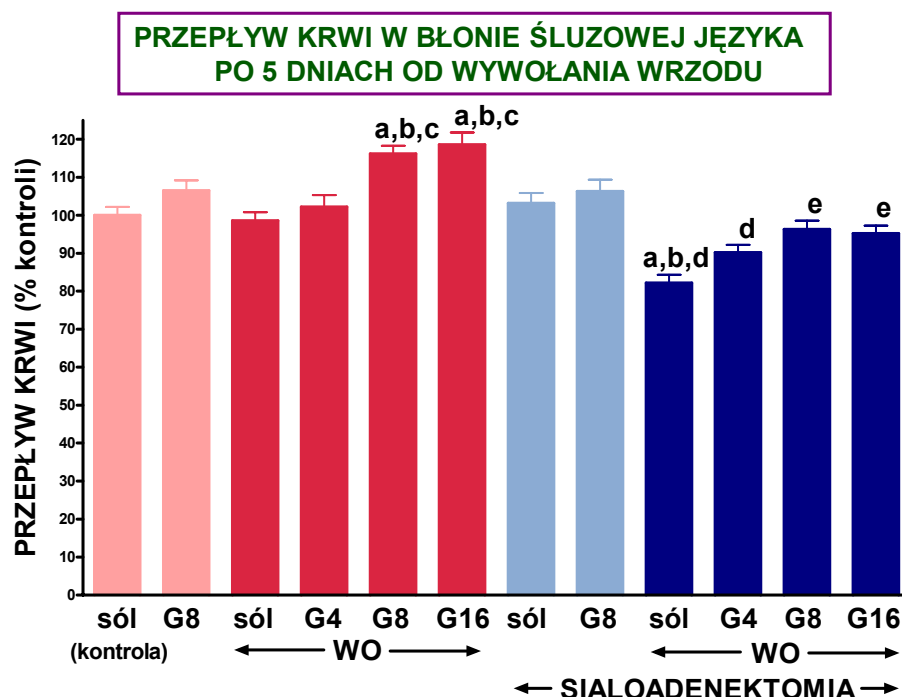
Ryc. 49. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po czterech dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

kontrolnych, Grelina podawana w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowała statystycznie znamienne i podobne dla obydwu dawek zwiększenie przepływu krwi po pięciu dniach od wywołania wrzodów u zwierząt po sialoadenektomi (Ryc. 51). Pięć dni po wywołaniu wrzodów języka przepływ krwi w błonie śluzowej języka osiągał u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt po hypofyzektomii 101,4% wartości kontrolnej (Ryc. 52). Pięciodniowe stosowanie greliny po wywołaniu wrzodów języka było bez znamiennego wpływu na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową (Ryc. 52).



Ryc. 50. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po czterech dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

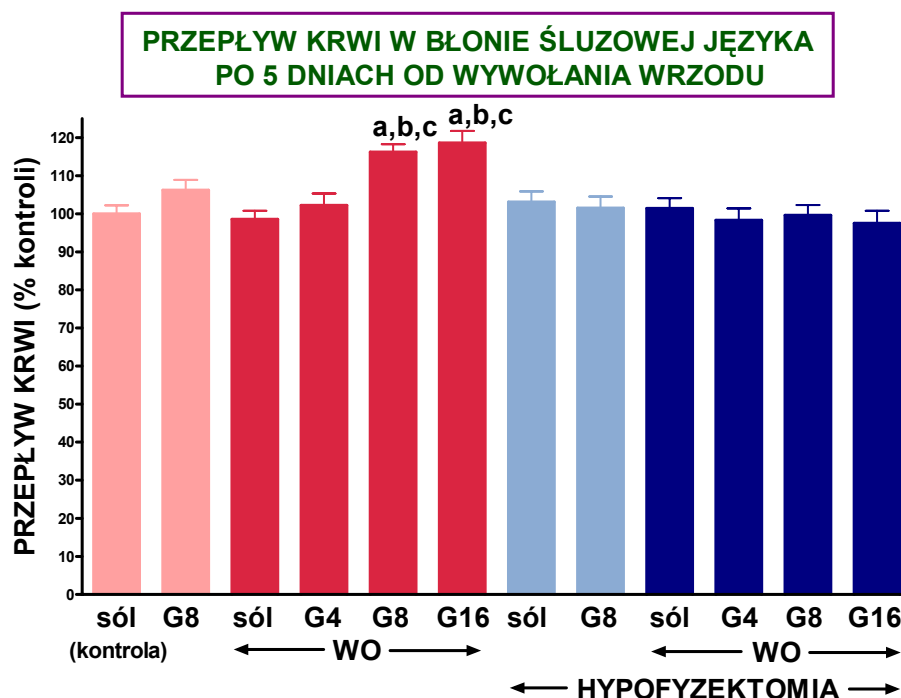
Po sześciu dniach od wywołania wrzodów języka, przepływ krwi przez błonę śluzową języka u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową osiągał 106,2% wartości kontrolnej (Ryc. 53). Podawanie greliny dodatkowo zwiększało przepływ krwi przez błonę śluzową języka u zwierząt z tej grupy i efekt ten był statystycznie znamieny dla każdej z zastosowanych dawek greliny (Ryc. 53). U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z usuniętymi śliniankami, przepływ krwi w błonie śluzowej języka po sześciu dniach od wywołania wrzodów osiągał 92,3% wartości kontrolnej i był statystycznie znamienne mniejszy w stosunku do przepływu obserwowanego w analogicznym okresie u zwierząt z



Ryc. 51. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po pięciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G4; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

zachowanymi śliniankami. Sześciodniowe podawanie greliny, po wywołaniu wrzodów języka, u zwierząt z usuniętymi śliniankami, prowadziło do znamiennego zwiększenia przepływu przez błonę śluzową języka (Ryc. 53). U zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, które po wywołaniu wrzodów języka otrzymywały przez sześć dni sól fizjologiczną, przepływ krwi w błonie śluzowej języka osiągał wartość nieznacznie i nieznamienne statystycznie przekraczającą poziom obserwowany w grupie kontrolnej (Ryc. 54). Podobne wielkości przepływu krwi przez błonę śluzową języka były

obserwowane u zwierząt pozbawionych przysadki mózowej, którym podawano grelinę (Ryc. 54).

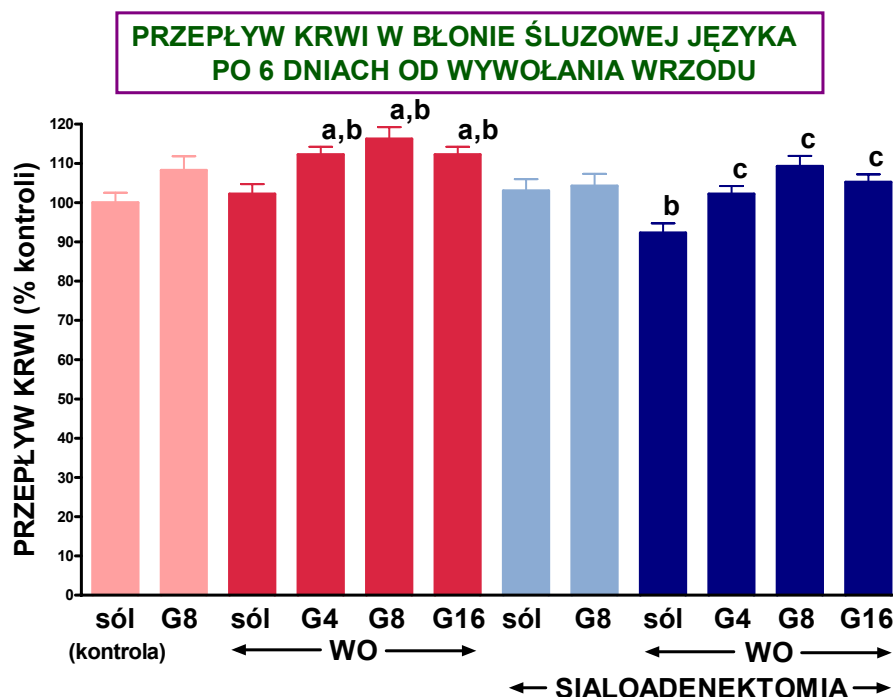


Ryc. 52. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po pięciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano G4.

4.3. Wpływ podawania greliny na syntezę DNA w błonie śluzowej jamy ustnej

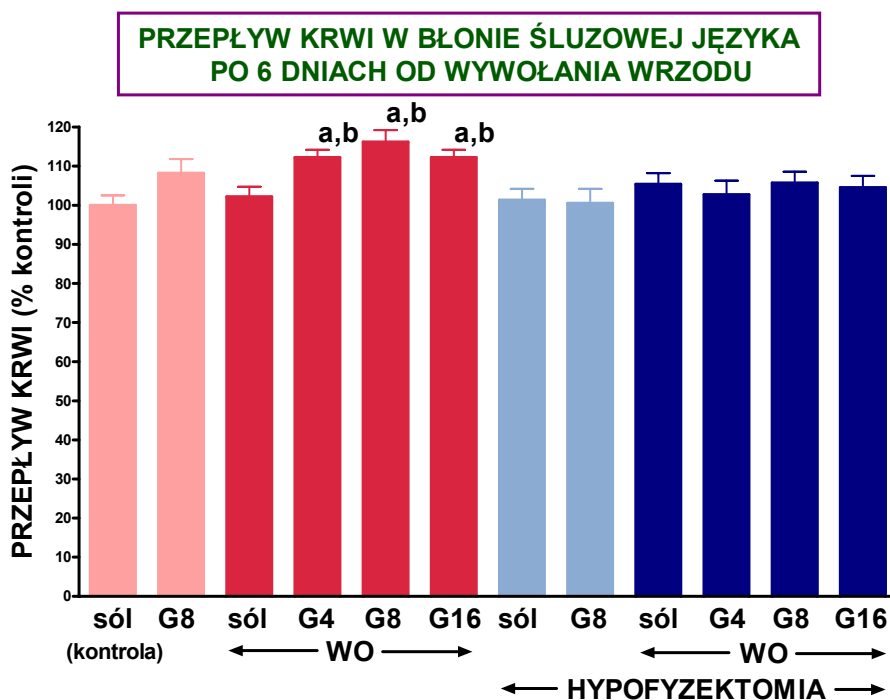
4.3.1. Wpływ podawania greliny na syntezę DNA w błonie śluzowej dziąsła

Zwierzęta z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, którym nie wywoływano wrzodów błony śluzowej jamy ustnej, stanowiły grupę kontrolną. Synteza DNA w błonie śluzowej dziąsła osiągała w tej grupie wartość $58,6 \pm 2,1$ dpm/ μ g DNA (Ryc. 55). Sześciodniowe podawanie greliny w dawce 8



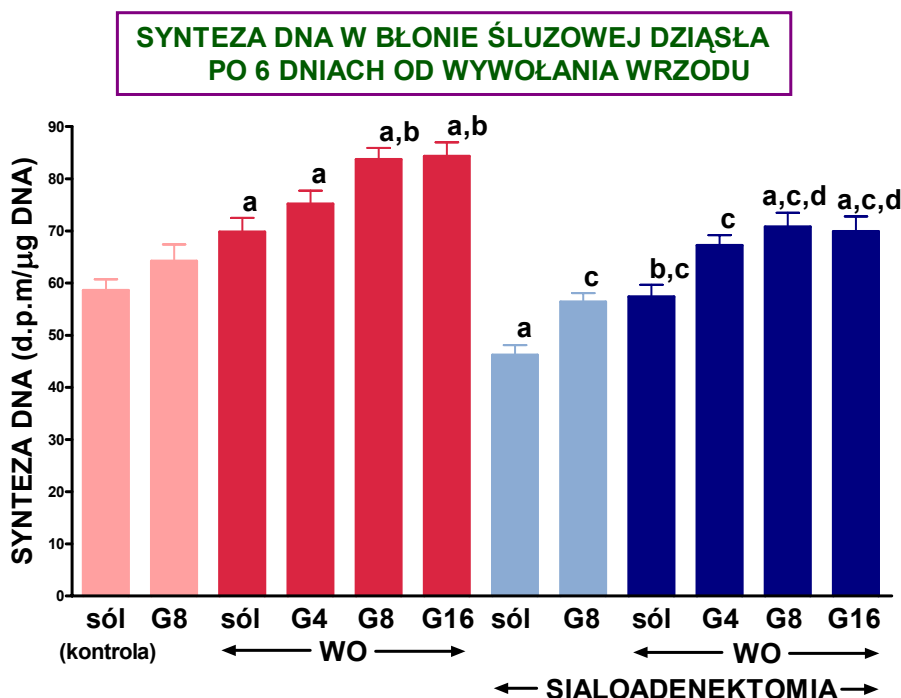
Ryc. 53. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

nmol/kg/dawkę pozostawało bez znamiennej wpływu na syntezę DNA w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką mózgową bez wywołania wrzodów dziąsła. U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, sześć dni po wywołaniu wrzodów błony śluzowej dziąsła, synteza DNA w tej błonie była o 19% większa niż grupie kontrolnej i efekt ten był statystycznie znamieny. Sześciodniowe podawanie greliny, po wywołaniu wrzodów, dodatkowo zwiększało poziom syntezy DNA w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt zachowanymi śliniankami i przysadką. Dla greliny użytej w dawce 8 i 16 nmol/kg/dawkę efekt ten był statystycznie znamieny (Ryc. 55).



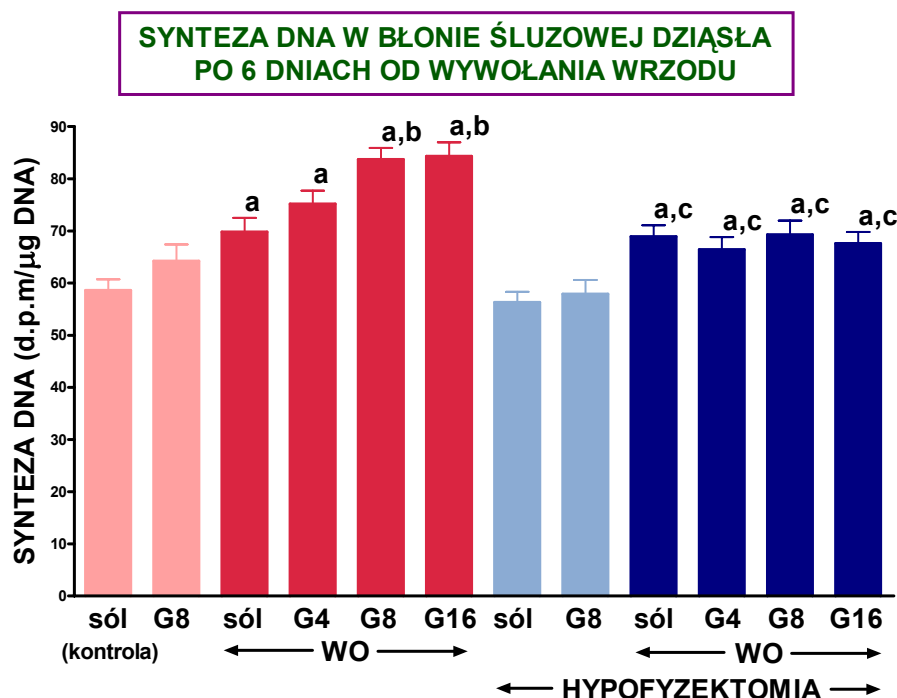
Ryc. 54. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na przepływ krwi w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

U zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym nie wywoływano wrzodów dziąsła, synteza DNA w błonie śluzowej dziąsła była znamienne mniejsza niż w grupie kontrolnej. Sześciodniowe podawanie greliny powodowało u tych zwierząt znamienne zwiększenie syntezy DNA w błonie śluzowej dziąsła, zbliżając jej poziom do wartości kontrolnych. U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt po sialadenektomii, sześć dni po wywołaniu wrzodów dziąsła, synteza DNA w błonie śluzowej dziąsła, była znamienne większa w porównaniu do zwierząt z tej grupy, u których nie wywoływano wrzodów, ale jednocześnie znamienne mniejsza niż w grupie zwierząt z wywołanymi wrzodami, przy zachowanych śliniankach. Sześciodniowe podawanie greliny, po wywołaniu wrzodów dziąsła, powodowało zwiększenie syntezy DNA w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt po sialadenektomii. Efekt ten był statystycznie znamienny, gdy stosowano grelinę w wyższych dawkach, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (Ryc. 55).



Ryc. 55. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na syntezę DNA w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym nie wywoływano WO; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

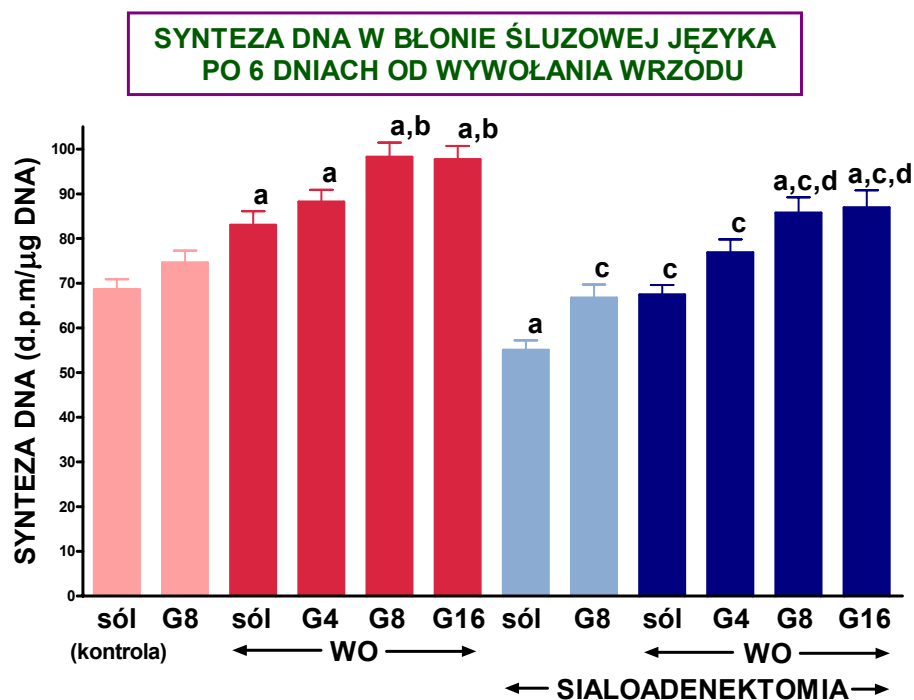
Usunięcie przysadki mózgowej, bez wywoływania wrzodów dziąsła, nie miało wpływu na syntezę DNA w błonie śluzowej dziąsła (Ryc. 56). Również podawanie greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę pozostawało bez wpływu na syntezę DNA w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt po hypofyzektomii, u których nie wywoływano wrzodów dziąsła. Wywołanie wrzodów dziąsła powodowało, że sześć dni po ich wywołaniu, u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt po hypofyzektomii, synteza DNA w błonie śluzowej dziąsła wzrastała o 22% w stosunku do wartości obserwowanych u zwierząt po hypofyzektomii bez wywoływania wrzodów dziąsła (Ryc. 56). Żadna z zastosowanych dawek greliny, podawanych przez sześć dni po wywołaniu wrzodów dziąsła, nie miała znamionnego wpływu na syntezę DNA u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową (Ryc. 56).



Ryc. 56. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na syntezę DNA w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

4.3.2. Wpływ podawania greliny na syntezę DNA w błonie śluzowej języka

U kontrolnych zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, u których nie wywoływano wrzodów języka, synteza DNA w błonie śluzowej języka osiągała wartość $68,6 \pm 2,3$ dpm/ μ g DNA (Ryc. 57). Sześciodniowe podawanie takim zwierzętom greliny (8 nmol/kg/dawkę), bez wywoływania wrzodów, nie powodowało znamiennej zmiany syntezy DNA w błonie śluzowej języka. Natomiast wywołanie wrzodów języka u zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką powodowało, że sześć dni po wywołaniu tych wrzodów, synteza DNA w

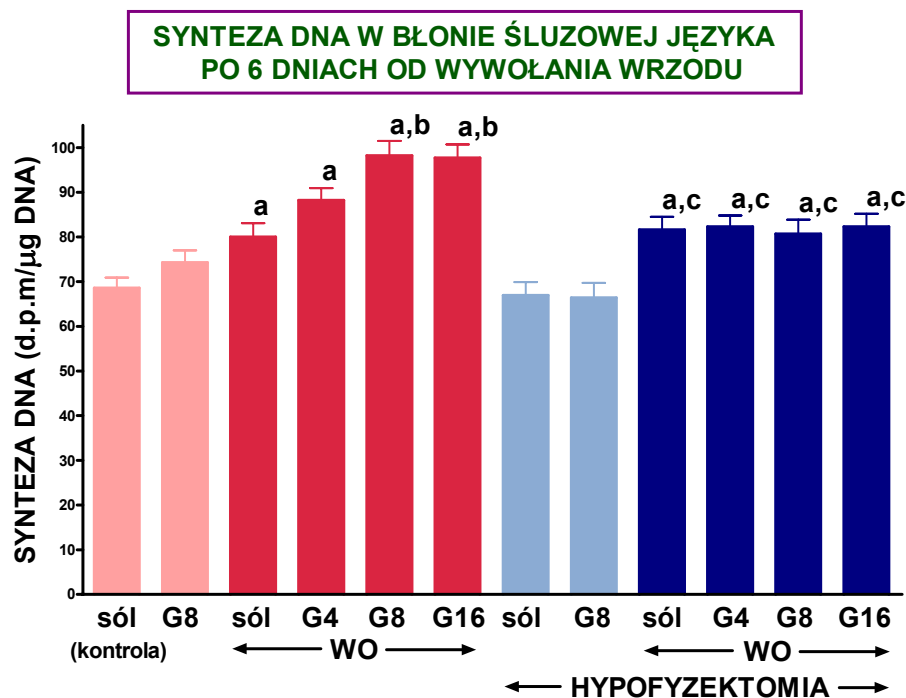


Ryc. 57. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na syntezę DNA w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzkowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym nie wywoływano WO; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną.

błonie śluzowej języka wzrastała w stosunku do wartości kontrolnej o 21%. Sześciodniowe podawanie greliny prowadziło u tych zwierząt do dalszego wzrostu syntezy DNA w błonie śluzowej języka. Efekt ten osiągnął znamienność statystyczną, gdy stosowano grelinę w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę.

U zwierząt po sialoadenektomii, u których nie wywoływano wrzodów języka, a jedynie podawano im przez sześć dni sól fizjologiczną, synteza DNA w błonie śluzowej języka była znamienne mniejsza w porównaniu do poziomu tej syntezy obserwowanego u zwierząt z zachowanymi śliniankami (Ryc. 57). Podawanie greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę, bez wywoływania wrzodów języka, znamienne odwracało, obserwowane u zwierząt po sialoadenektomii, zahamowanie syntezy DNA w błonie śluzowej języka. Również wywołanie wrzodów języka prowadziło do wzrostu syntezy

DNA, u zwierząt z usuniętymi śliniankami. Sześciodniowe podawanie greliny po wywołaniu wrzodów języka prowadziło do dalszego wzrostu syntezy DNA w błonie śluzowej języka u zwierząt po sialadenektomii, i efekt ten uzyskiwał znamienność statystyczną, gdy stosowano grelinę w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (Ryc. 57).



Ryc. 58. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na syntezę DNA w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt po hypofyzektomii, u których nie wywoływano wrzodów języka, synteza DNA w błonie śluzowej języka uzyskiwała podobne wartości jak w grupie kontrolnej z zachowaną przysadką mózgową (Ryc. 58).

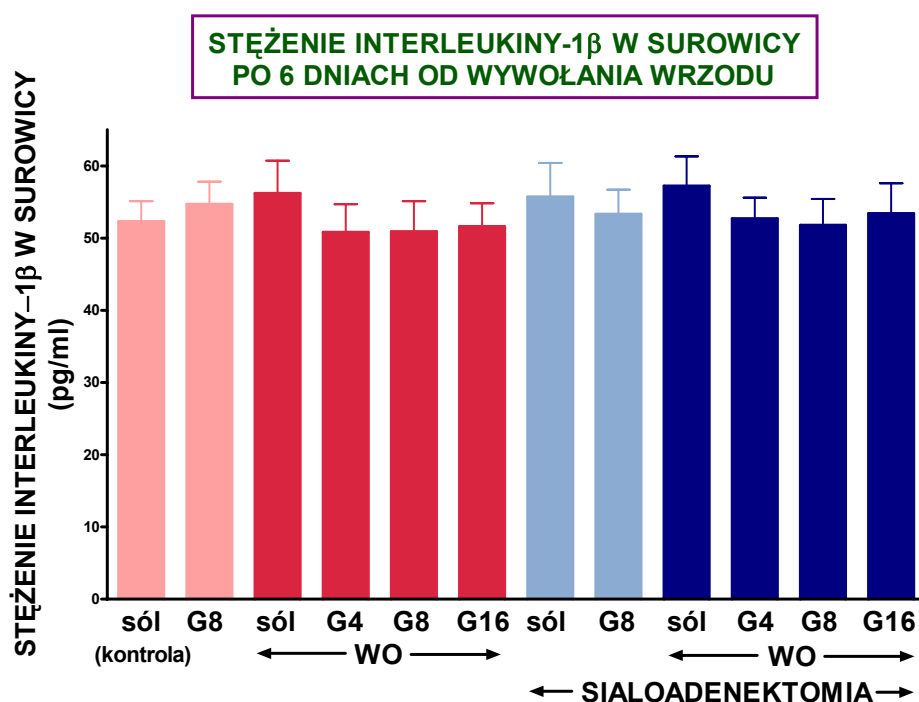
U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, po sześciu dniach od wywołania wrzodów języka, synteza DNA w błonie śluzowej języka była znamienne większa w porównaniu do zwierząt po hypofyzektomii, u których nie wywołano wrzodów języka. Podawanie greliny, w każdej z zastosowanych dawek, było bez wpływu na poziom syntezy DNA w błonie śluzowej języka u zwierząt z usuniętą

przysadką mózgową. Ten brak efektu występował zarówno u zwierząt, u których wywoływano wrzody języka, jak też u zwierząt bez wywoływania tych wrzodów (Ryc. 58).

4.4. Wpływ podawania greliny na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β

4.4.1. Wpływ podawania greliny na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w surowicy

U kontrolnych zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, które otrzymywały sól fizjologiczną, a u których nie wywoływano wrzodów błony śluzowej jamy ustnej, stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w surowicy osiągało wartość 52,3 pg/ml (Ryc. 59). Wywołanie wrzodów błony śluzowej jamy ustnej, u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową pozostawało bez wpływu na stężenie interleukiny-1 β w surowicy po sześciu dniach od wywołania



Ryc. 59. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie pro-zapalnej interleukiny- β w surowicy zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie.

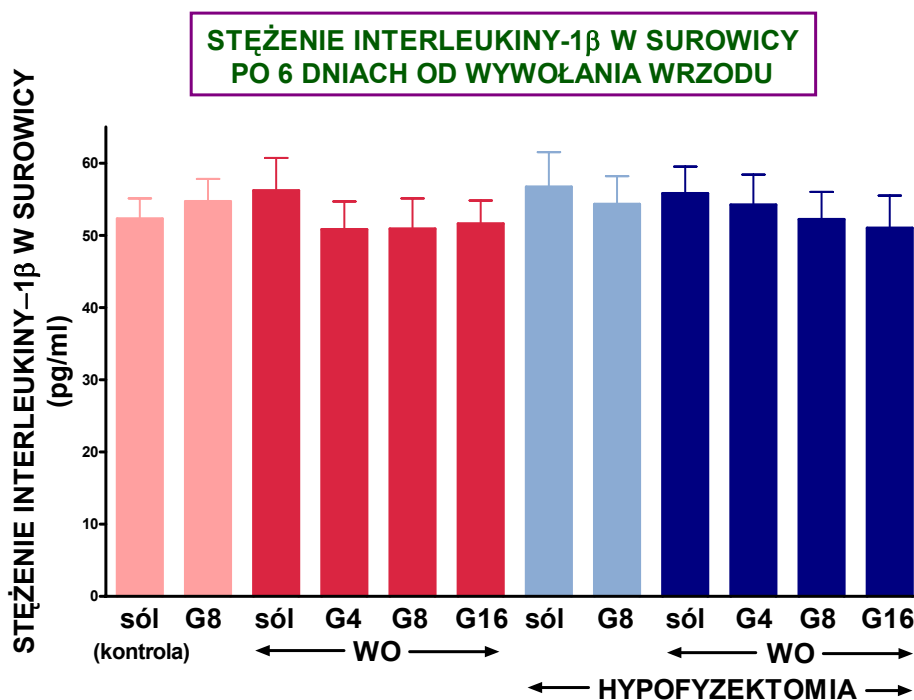
tych wrzodów (Ryc. 59). Również podawanie greliny w zastosowanych dawkach nie miało wpływu na stężenie interleukiny-1 β w surowicy u zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką mózgową. Ten brak efektu występował zarówno u zwierząt, u których wywoływano wrzody jamy ustnej, jak i zwierząt, u których tych wrzodów nie wywoływano (Ryc.59).

Na stężenie interleukiny-1 β w surowicy nie miało też wpływu usunięcie ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych (Ryc. 59). U zwierząt po sialadenektomi obserwowano podobne stężenia interleukiny-1 β w surowicy jak u zwierząt z zachowanymi śliniankami. Ten brak efektu dotyczył zarówno zwierząt z wywoływaniem wrzodów, jak i bez ich wywoływania. Na stężenie interleukiny-1 β w surowicy u zwierząt po sialadenektomi nie wpływało też podawanie greliny (Ryc. 59).

Również usunięcie przysadki mózgowej nie miało wpływu na stężenia interleukiny-1 β w surowicy (Ryc. 60). We wszystkich grupach zwierząt po hypofyzektomii obserwowano podobne stężenia interleukiny-1 β w surowicy, a te z kolei były podobne do stężeń obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową (Ryc. 60).

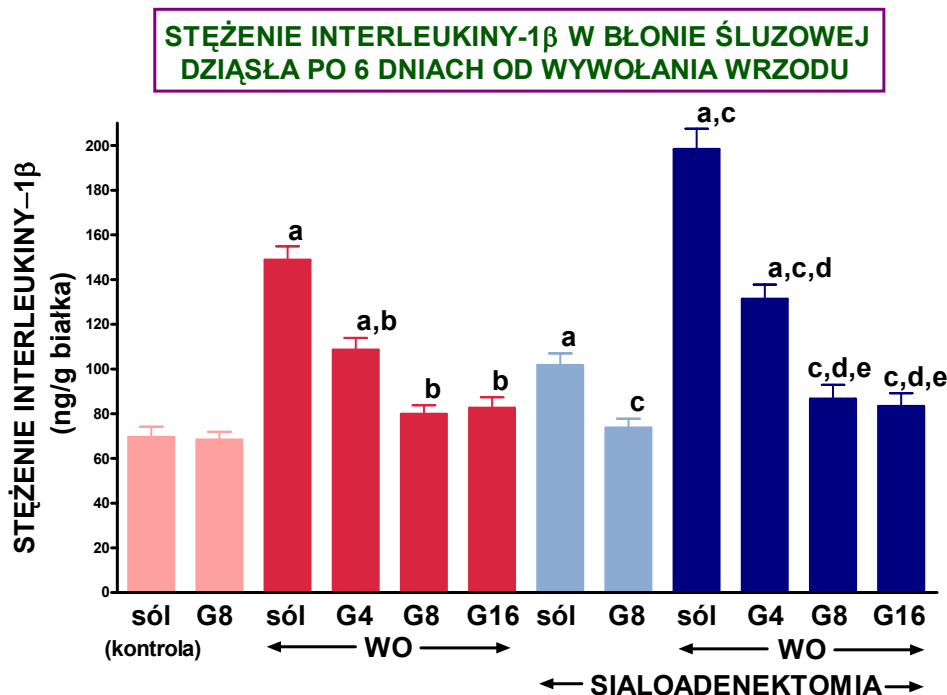
4.4.2. Wpływ podawania greliny na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła

Stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła u kontrolnych otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z nienaruszonymi śliniankami i zachowaną przysadką mózgową, wynosiło $69,5 \pm 4.7$ ng/g białka (Ryc. 61). Podawanie u takich zwierząt greliny przez 6 dni w dawce 8 nmol/kg/dawkę nie miało wpływu na stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła. Natomiast wywołanie wrzodów dziąsła u zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką powodowało, że sześć dni po wywołaniu tych wrzodów, stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła rosło ponad dwukrotnie w stosunku do wartości obserwowanej u zwierząt kontrolnych. Sześciodniowe podawanie greliny, po wywołaniu wrzodów dziąsła, obniżało stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką. Efekt ten osiągnął znamienność statystyczną, dla wszystkich zastosowanych dawek greliny. W przypadku zastosowania greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę, stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła obniżało się do poziomu obserwowanego u zwierząt kontrolnych (Ryc. 61).



Ryc. 60. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w surowicy zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie.

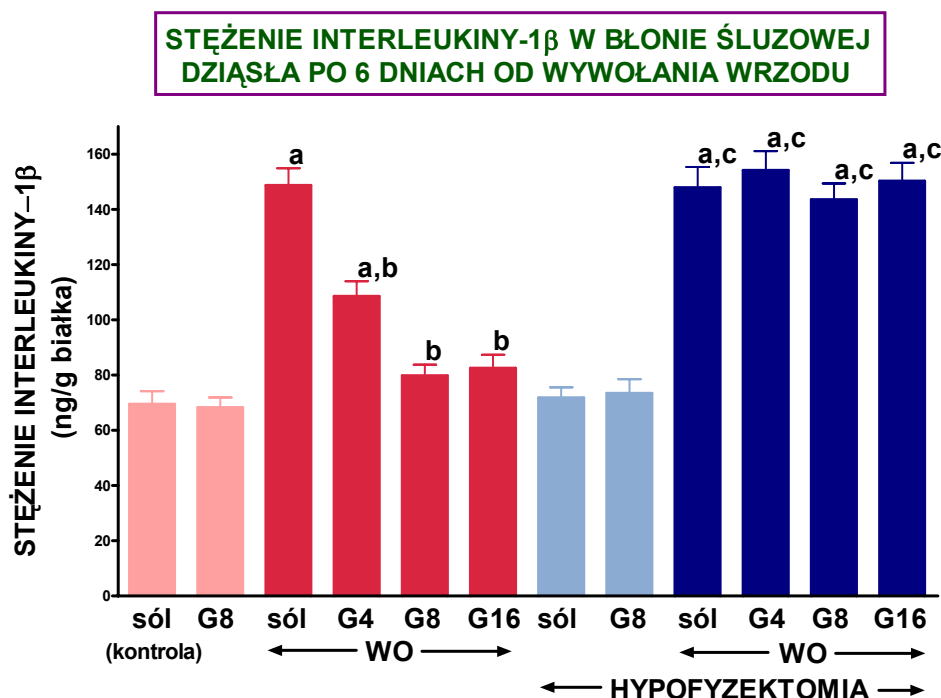
U zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi, które otrzymywały sól fizjologiczną, a nie miały wywoływanych wrzodów dziąsła, stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła było podwyższone w stosunku do wartości kontrolnej o 46% i efekt ten był statystycznie znamieny (Ryc. 61). Sześciodniowe podawanie greliny powodowało u tych zwierząt znamienne obniżenie stężenia interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła, zbliżając jej poziom do wartości kontrolnych. U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt po sialadenektomii, sześć dni po wywołaniu wrzodów dziąsła, stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła, było znamienne większa w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt kontrolnych, zwierząt z zachowanymi śliniankami i wywołanymi wrzodami, jak też u zwierząt po sialadenektomii bez wywoływania wrzodów dziąsła (Ryc. 61). Sześciodniowe podawanie greliny, po wywołaniu wrzodów dziąsła, powodowało u zwierząt z usuniętymi śliniankami znamienne zmniejszenie stężenia interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła. Efekt ten był silniej zaznaczony gdy stosowano grelinę w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (Ryc. 61).



Ryc. 61. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym nie wywoływano WO; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G4.

U zwierząt z zachowanymi śliniankami, a usuniętą przysadką mózgową, u których nie wywoływano wrzodów i nie podawano greliny, stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła osiągało wartość zbliżoną do wartości kontrolnej (Ryc. 62).

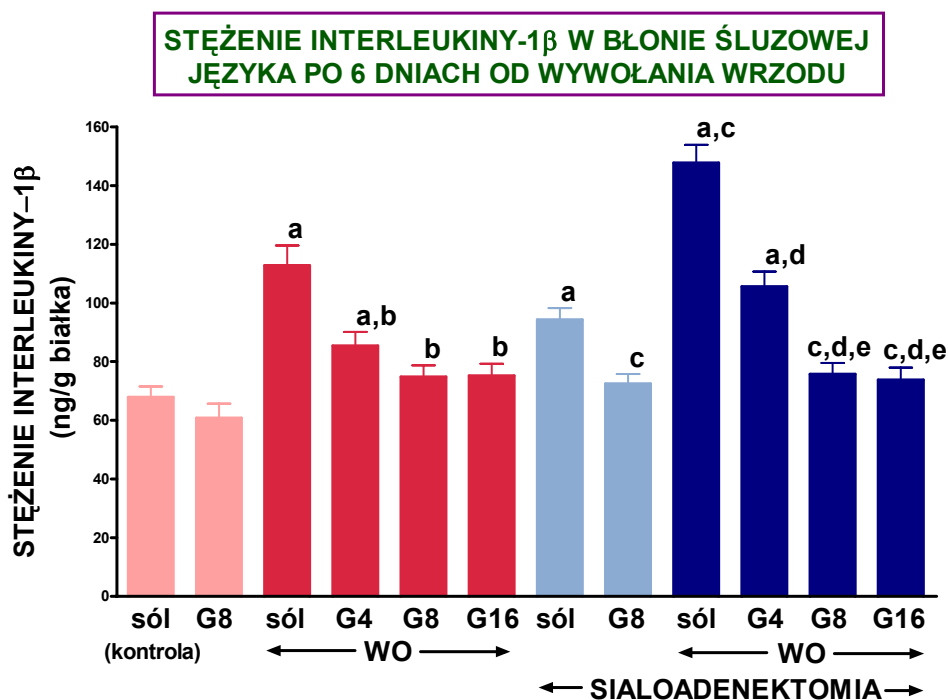
Wywołanie wrzodów dziąsła powodowało u zwierząt po hypofyzektomii ponad dwukrotny wzrost stężenia interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła. Podawanie greliny u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową nie miało wpływu na stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła. Ten brak efekty podawania greliny na stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła występował zarówno u zwierząt z wywołanymi wrzodami, jak i u zwierząt bez wywoływania wrzodów dziąsła (Ryc. 62).



Ryc. 62. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

4.4.3. Wpływ podawania greliny na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej języka

U kontrolnych zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, u których nie wywoływano wrzodów języka, stężenie interleukiny-1 β w błonie języka osiągało wartość $67,9 \pm 3,6$ ng/g białka (Ryc. 63). Sześciodniowe podawanie takim zwierzętom greliny (8 nmol/kg/dawkę), bez wywoływania wrzodów, nie miało wpływu na stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej języka. Wywołanie wrzodów języka u zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką powodowało, że

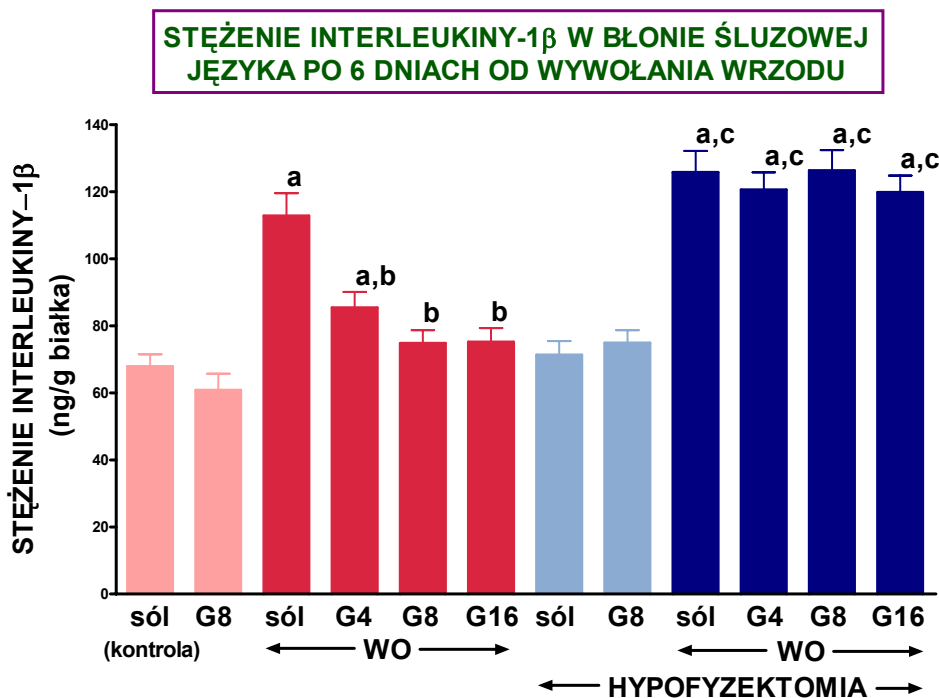


Ryc. 63. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym nie wywoływano WO; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G4.

sześć dni po wywołaniu tych wrzodów, stężenie interleukiny-1 β w błonie języka wzrastało prawie dwukrotnie w stosunku do wartości kontrolnej. Sześciodniowe podawanie greliny prowadziło u tych zwierząt do statystycznie znaczącego odwrócenia tego wzrostu. Efekt ten osiągnął znaczącość statystyczną dla wszystkich zastosowanych dawek greliny z tym, że najsilniej się manifestował, gdy grelinę stosowano w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę.

U zwierząt po sialoadenektomii, u których nie wywoływano wrzodów języka, a jedynie podawano im przez sześć dni sól fizjologiczną, stężenie interleukiny-1 β w

blonie języka było znamienne większe w porównaniu do stężenia obserwowanego u



Ryc. 64. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej języka u zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO.

zwierząt z zachowanymi śliniankami (Ryc. 63). Podawanie greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę, bez wywoływania wrzodów języka, odwracało ten wzrost. U zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi wywołanie wrzodów języka prowadziło do znamiennego wzrostu stężenia interleukiny-1 β w błonie śluzowej języka. Sześciodniowe podawanie greliny po wywołaniu wrzodów języka obniżało stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej języka. Efekt ten był statystycznie znamienne dla wszystkich zastosowanych dawek greliny. W przypadku zastosowania greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę stężenie interleukiny-1 β w błonie języka spadało poniżej wartości obserwowanej u zwierząt po sialadenektomii, u których nie wywoływano wrzodów (Ryc. 63).

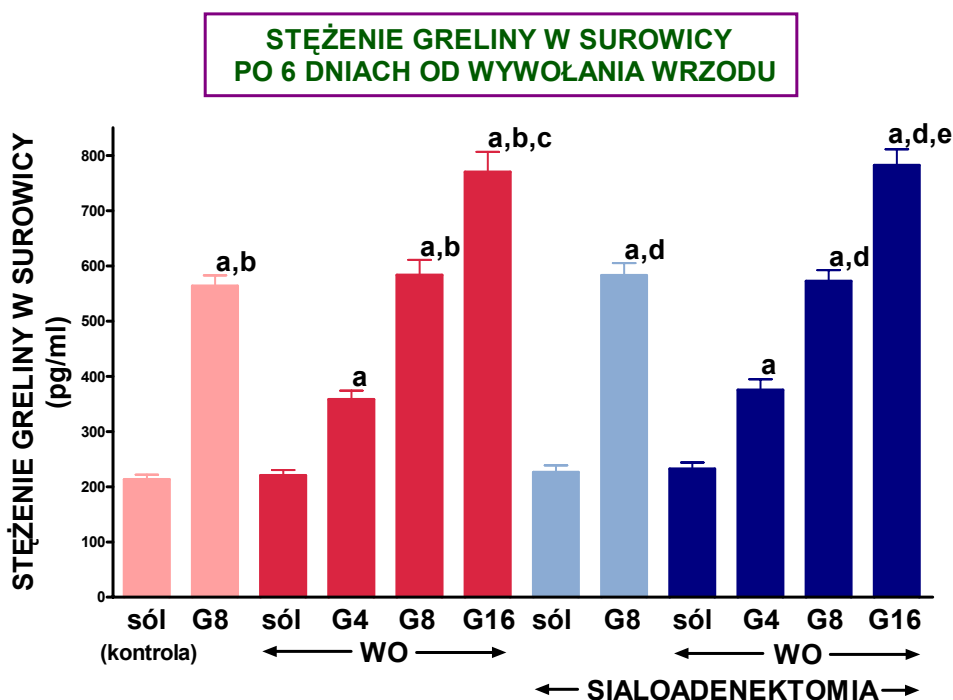
U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, u których nie wywoływano wrzodów języka, stężenie interleukiny-1 β w błonie języka osiągało podobne wartości jak w grupie kontrolnej z zachowaną przysadką mózgową (Ryc. 64). U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt po hypofyzektomii, po sześciu dniach od wywołania wrzodów języka, stężenie interleukiny-1 β w błonie języka było prawie dwa razy większe niż u zwierząt, u których nie wywołano wrzodów języka. Podawanie greliny, w każdej z zastosowanych dawek, było bez wpływu na stężenie interleukiny-1 β w błonie języka u wszystkich zwierząt z usuniętą przysadką mózgową (Ryc. 64).

4.5. Wpływ podawania greliny na stężenie greliny w surowicy

U kontrolnych zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, które otrzymywały sól fizjologiczną, stężenie greliny surowicy osiągało poziom 213 pg/ml (Ryc. 65). Sześciodniowe podawanie greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę powodowało, że stężenie greliny w surowicy rosło do wartości 563 pg/ml. Wywołanie wrzodów jamy ustnej nie miało wpływu na stężenie greliny w surowicy zwierząt z zachowanymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi oraz zachowaną przysadką mózgową. Sześciodniowe podawanie greliny powodowało u tych zwierząt wzrost stężenia greliny w surowicy, a poziom tego wzrostu był zależny od zastosowanej dawki. I tak przy zastosowaniu dawek greliny wynoszących 4, 8 i 16 nmol/kg/dawkę osiągnęto stężenia greliny w surowicy wynoszące odpowiednio 358, 583 i 769 pg/ml.

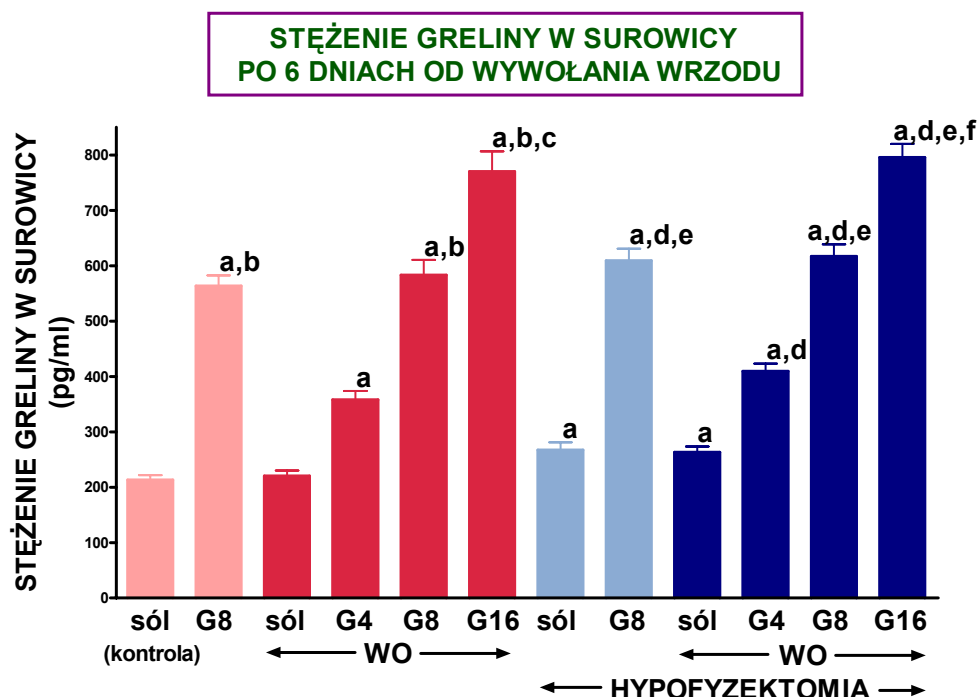
U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z usuniętymi śliniankami bez wywoływania wrzodów, stężenie greliny w surowicy było podobne do tego, które obserwowano u zwierząt kontrolnych (Ryc. 65). Również wywołanie wrzodów jamy ustnej nie miało wpływu na poziom greliny w surowicy u zwierząt po sialadenektomii. Podawanie greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę u zwierząt z usuniętymi śliniankami powodowało ponad dwukrotny wzrost stężenia greliny w surowicy, a uzyskana wartość była zbliżona do tej, którą obserwowano u otrzymujących taką samą dawkę greliny zwierząt z zachowanymi śliniankami. Podawanie zwierzętom po sialadenektomii i wywołaniu wrzodów jamy ustnej, greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg powodowało

zbliżone wzrosty stężenia greliny w surowicy jak u zwierząt z zachowanymi śliniankami (Ryc. 65).



Ryc. 65. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie greliny w surowicy zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G4; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G8; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G4; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G8.

U zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, którym nie podawano greliny i nie wywoływano wrzodów jamy ustnej, stężenie endogennej greliny w surowicy było o 25% wyższe w porównaniu do analogicznych zwierząt z zachowaną przysadką mózgową i efekt ten był statystycznie znamieny (Ryc. 66). Podawanie zwierzętom po hypofyzektomii, greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę prowadziło do dalszego wzrostu greliny w surowicy. Wywołanie wrzodów jamy ustnej, u zwierząt po hypofyzektomii

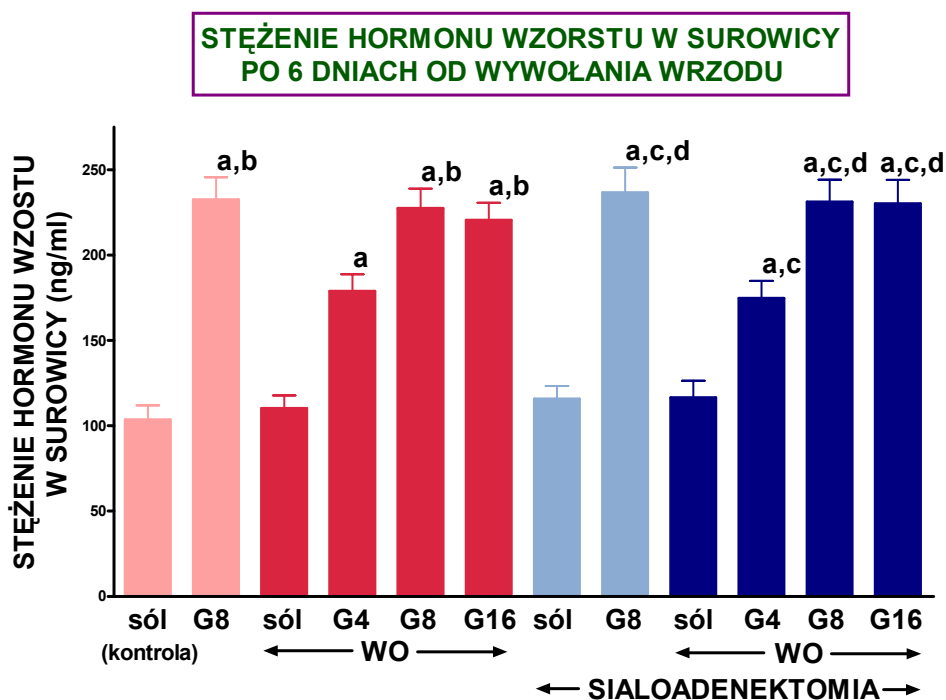


Ryc. 66. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie greliny w surowicy zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano G4; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano G8; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO; ^e $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, którym po wywołaniu WO podawano G4; ^f $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, którym po wywołaniu WO podawano G8.

nie miało wpływu na stężenie greliny w surowicy. U zwierząt z usuniętą przysadką mózgową, podawanie greliny po wywołaniu wrzodów jamy ustnej powodowało dawkozależny wzrost stężenia greliny w surowicy. Uzyskane wartości były trochę większe niż u zwierząt z zachowaną przysadką, ale różnice te nie były istotne statystycznie (Ryc. 66).

4.6. Wpływ podawania greliny na stężenie hormonu wzrostu w surowicy

U otrzymujących sól fizjologiczną kontrolnych zwierząt z zachowanymi śliniankami i przysadką mózgową oraz nienaruszoną błoną śluzową jamy ustnej

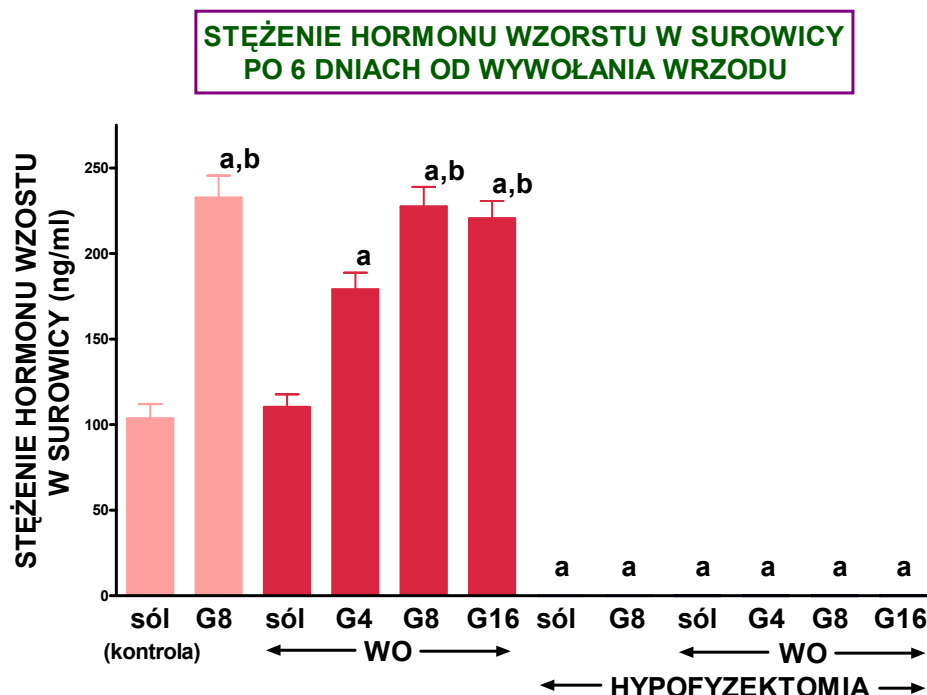


Ryc. 67. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie hormonu wzrostu w surowicy zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G4; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G4.

stężenie hormonu wzrostu w surowicy wynosiło 103, 5 ng/ml (Ryc. 67). Podawanie greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę powodowało u takich zwierząt wzrost stężenia hormonu wzrostu o 125%. Wywołanie wrzodów jamy ustnej nie miało wpływu na stężenie hormonu wzrostu w surowicy zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową. Podawanie, po wywołaniu wrzodów jamy ustnej, greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowało, u zwierząt z zachowanymi

śliniankami i nienaruszoną przysadką, wzrost stężenia hormonu wzrostu odpowiednio o 73, 120 lub 113% (Ryc. 67).

U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi, u których nie wywoływano wrzodów jamy ustnej, stężenie hormonu wzrostu w surowicy osiągało wartość 115, 7 ng/ml i wartość ta była zbliżona do wartości kontrolnej (Ryc. 67). Podawanie greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę powodowało u takich zwierząt wzrost stężenia hormonu wzrostu w



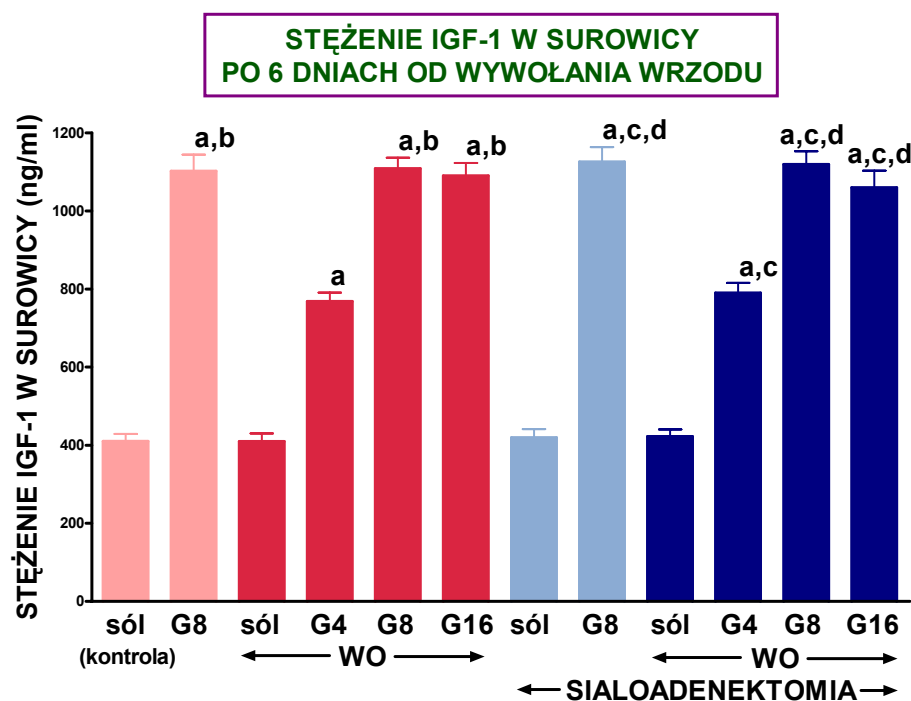
Ryc. 68. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie hormonu wzrostu w surowicy zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano G4.

surowicy o 104%. Wywołanie wrzodów nie miało wpływu na stężenia hormonu w surowicy zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi. Natomiast podawanie greliny po wywołaniu wrzodów powodowało statystycznie znamienne wzrost stężenia hormonu wzrostu w surowicy. Podanie greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę powodowało podobny wzrost stężenia hormonu wzrostu w surowicy jak dawka greliny wynosząca 16 nmol/kg/dawkę (Ryc. 67).

Usunięcie przysadki powodowało usunięcie endogennego źródła hormonu wzrostu. Dlatego też u wszystkich zwierząt, które podległy tej procedurze nie stwierdzono obecności hormonu wzrostu w surowicy (Ryc. 68). Z tego też powodu podawanie greliny nie miało wpływu na stężenie hormonu wzrostu w surowicy zwierząt po hypofizektomii (Ryc. 68).

4.7. Wpływ podawania greliny na stężenie IGF-1 w surowicy

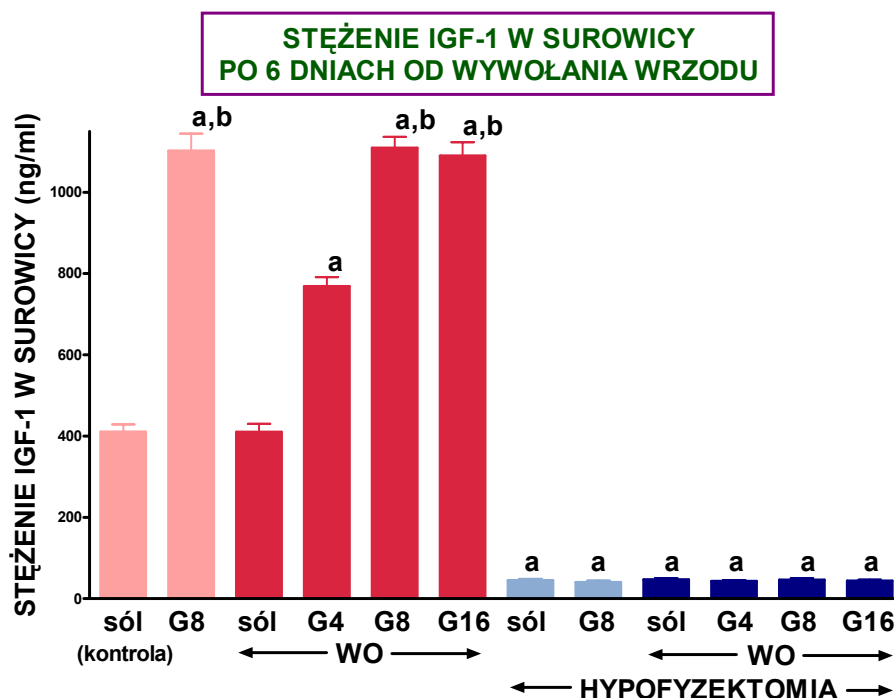
U zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, którym nie wywoływano wrzodów jamy ustnej i nie podawano greliny, stężenie IGF-1 w surowicy osiągało poziom 410,3 ng/ml (Ryc. 69). Wartość ta została uznana za



Ryc. 69. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie IGF-1 w surowicy zwierząt z zachowanymi lub usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowanymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G4; ^c $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano sól fizjologiczną; ^d $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z usuniętymi śliniankami, którym po wywołaniu WO podawano G4.

wartość kontrolną. Podawanie u tych zwierząt greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę powodowało prawie trzykrotny wzrost stężenia IGF-1 w surowicy. Wywołanie wrzodów jamy ustnej nie miało wpływu na stężenie IGF-1 w surowicy zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową. Podawanie greliny po wywołaniu wrzodów powodowało u tych zwierząt wzrost stężenia IGF-1 w surowicy. Stężenie IGF-1 po grelinie podawanej w dawce 4 nmol/kg/dawkę wzrastało prawie dwukrotnie, grelina podawana w dawce 8 nmol/kg/dawkę powodowała prawie trzykrotny wzrost stężenia IGF-1 w surowicy, natomiast efekt podawania greliny w dawce 16 nmol/kg/dawkę był zbliżony do efektu podawania greliny w dawce 8 nmol/kg/dawkę (Ryc. 69).

U otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z usuniętymi śliniankami podzuchwowymi i podjęzykowymi, u których nie wywoływano wrzodów jamy ustnej,



Ryc. 70. Wpływ podawania soli fizjologicznej lub greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę (G4, G8 lub G16) na stężenie hormonu wzrostu w surowicy zwierząt z zachowaną lub usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia), którym nie wywoływano lub wywoływano wrzody octowe (WO). Obserwacja po sześciu dniach od wywołania WO i/lub rozpoczęcia podawania soli fizjologicznej lub greliny. Wartość średnia \pm błąd standardowy. $N = 10$ obserwacji w każdej grupie. ^a $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, którym podawano sól fizjologiczną, a nie wywoływano WO (kontrola); ^b $P < 0,05$ w porównaniu do wartości obserwowanych u zwierząt z zachowaną przysadką, którym po wywołaniu WO podawano G4.

stężenie IGF-1 w surowicy było zbliżone do stężenia obserwowanego w grupie kontrolnej. Wywołanie wrzodów jamy ustnej nie miało wpływu na stężenia IGF-1 w surowicy zwierząt po sialadenektomii. Podawanie greliny w zastosowanych dawkach powodowało, u zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi, podobne wzrosty stężenia IGF-1 jak u zwierząt z zachowanymi śliniankami (Ryc. 69).

Usunięcie przysadki mózgowej powodowało, że u otrzymujących sól fizjologiczną zwierząt z nienaruszoną błoną śluzową jamy ustnej, stężenie IGF-1 w surowicy osiągało poziom około 11% wartości kontrolnej. (Ryc. 70). Ani wywoływanie wrzodów jamy ustnej, ani podawanie greliny nie miało wpływu na stężenie IGF-1 w surowicy zwierząt z usuniętą przysadką mózgową.

4.8. Wpływ podawania greliny na stan błony śluzowej jamy ustnej w ocenie makroskopowej i histologicznej

W ocenie makroskopowej błony śluzowej jamy ustnej podawanie greliny, jak i usunięcie przysadki mózgowej nie miało wpływu na morfologię tej błony. Usunięcie ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych powodowało, że błona śluzowa jamy ustnej była lekko zaczerwieniona i podsychająca. Podanie greliny u zwierząt z usuniętymi śliniankami prowadziło do ustąpienia zaczerwienienia błony śluzowej jamy ustnej, nie miało natomiast wpływu na zmniejszenie wilgotności tej błony.

W ocenie histologicznej ani sialadenektomia, ani hypofyzektomia nie miały wpływu na obraz błony śluzowej. We wszystkich przypadkach obserwowano błonę śluzową pokrytą regularnym nabłonkiem wielowarstwowym płaskim o prawidłowej budowie histologicznej. Również podawanie greliny nie miało wpływu na morfologię błony śluzowej jamy ustnej w obrazach histologicznych. Ten brak efektu był obserwowany zarówno u zwierząt z nienaruszonymi śliniankami i zachowaną przysadką, jak i u zwierząt po sialadenektomii lub hypofyzektomii.

5. DYSKUSJA

Przeprowadzone badania dostarczyły kilku istotnych obserwacji. Przede wszystkim wykazały, że podawanie greliny przyspiesza gojenie uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej u zwierząt z nieuszkodzoną przysadką i zachowanymi śliniankami. W przypadku wrzodów wywołanych na języku, efekt leczniczy był statystycznie znamieny już po dwóch dniach stosowania greliny, natomiast w przypadku wrzodów na dziąsła, konieczne było trzydniowe podawanie greliny, aby uzyskać statystycznie znamienne przyspieszenie gojenia uszkodzeń. Grelina podawana w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę wywoływała podobne efekty lecznicze. Podawanie greliny w dawce 4 nmol/kg/dawkę również powodowało przyspieszenie gojenia wrzodów jamy ustnej, ale efekty te były znamienne gorsze od efektów uzyskanych po zastosowaniu greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę. Spontaniczna regeneracja błony śluzowej dziąsła i języka wykazywała się dużą dynamiką i po sześciu dniach od wywołania wrzodów dziąsła i języka dochodziło do niemal całkowitego wygojenia błony śluzowej tych narządów. Obserwacja ta zgodna jest z wcześniejszymi doniesieniami, że gojenie uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej zachodzi znacznie szybciej niż gojenie uszkodzeń skóry (Sciubba i inni, 1978). Podawanie greliny dodatkowo przyspieszało ten proces i u wszystkich zwierząt z zachowaną przysadką mózgową, które otrzymywały grelinę, po sześciu dniach od wywołania wrzodów, obserwowano całkowite wygojenie błony śluzowej dziąsła i języka.

Efekty lecznicze greliny w gojeniu wrzodów dziąsła i języka skojarzone były z jej pobudzającym wpływem na śluzówkową syntezę DNA i przepływ krwi oraz zmniejszeniem zawartość interleukiny-1 β w błonie śluzowej tych narządów. Błona śluzowa przewodu pokarmowego utrzymują swoją integralność dzięki równowadze dynamicznej pomiędzy utratą komórkową, a powstawaniem nowych komórek. Nowe komórki powstają w leżącym u podstawy błony śluzowej przedziale reprodukcyjnym tej błony. Znajdujące się tam komórki dzielą się mitotycznie. Następnie nowopowstałe komórki potomne przemieszczane są do przedziału czynnościowego, gdzie podlegają różnicowaniu, dojrzewaniu i ostatecznie złuszczeniu na powierzchni błony śluzowej. Cykl życiowy komórek przedziału reprodukcyjnego dzieli się na cztery fazy. W fazie S, dochodzi do syntezy DNA w komórce i faza ta wraz z fazą G₂ poprzedzają podziały mitotyczne komórek (Hamilton i Blackwood, 1974). Dlatego też zbadanie stopnia wbudowywania tymidyny znakowanej trytem do DNA komórek błony śluzowej jamy

ustnej pozwala na określenie stopnia proliferacji komórkowej tej błony. Prezentowane w obecnej pracy badania wykazały, że wywołanie uszkodzeń błony śluzowej dziąsła i języka powoduje pobudzenie syntezy DNA w błonie śluzowej tych narządów, co umożliwia jej spontaniczną regenerację. Ponadto, przeprowadzone badania dowiodły, że podawanie greliny, u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, u których wywołano uszkodzenia błony śluzowej, powoduje dodatkowy wzrost syntezy DNA w komórka błony śluzowej dziąsła i języka. Dowodzi to nasilenia proliferacji komórkowej w błonie śluzowej tych narządów i wskazuje istotny mechanizm, na którym opiera się lecznicze działanie greliny w gojeniu uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej.

Prawidłowy przepływ krwi odgrywa zasadnicze znaczenie w utrzymaniu integralności błony śluzowej przewodu pokarmowego. Liczne badania wykazały, że ekspozycja błony śluzowej żołądka na działanie czynników potencjalnie uszkadzających wywołuje niewielkie uszkodzenia tej błony lub nawet może nie dochodzić do rozwoju tych uszkodzeń tak długo, jak długo jest utrzymywany odpowiedni przepływ krwi przez błonę śluzową żołądka. Natomiast, jeżeli ekspozycja na te czynniki jest powiązana ze zmniejszeniem przepływu krwi przez błonę śluzową żołądka, to dochodzi do masywnych uszkodzeń tej błony (Sorbye i Svanes, 1994). Ponadto liczne badania wykazały, że zwiększenie przepływu krwi przez żołądek chroni błonę śluzową tego narządu przed działaniem licznych czynników uszkadzających (Abdel-Salam i inni, 2001; Dembiński i inni, 2005b; Kwiecień i inni, 2008). Ochronne działanie przepływu krwi na błonę żołądka związane jest z dostarczaniem odpowiedniej ilości tlenu, wodorowęglanów i substancji odżywczych, a także usuwaniem dwutlenku węgla, jonów wodorowych i substancji toksycznych przedostających się do błony śluzowej ze strony światła żołądka (Sorbye i Svanes, 1994). Niedotlenienie żołądka prowadzi do nagromadzenia jonów wodorowych w błonie śluzowej tego narządu, co daje w następstwie zakwaszenie błony śluzowej żołądka i rozwój wrzodów żołądka (Allen i inni, 1993). Ponadto zakwaszenie błony śluzowej żołądka jest czynnikiem w istotny sposób zwiększającym ryzyko krwawień z przewodu pokarmowego we wrzodach stresowych (Fiddian-Green i inni, 1983). Również w przypadku wrzodów dwunastnicy hipoksja jest czynnikiem opóźniającym gojenie tych wrzodów (Leung i inni, 1989). Istnieje natomiast niewiele doniesień dotyczących roli ukrwienia w utrzymaniu integralności błony śluzowej jamy ustnej. Kindlova i Scheinin (1968) wykazały, że jeżeli na błonę śluzową dziąsła działają słabe długotrwałe bodźce uszkadzające to dochodzi w tej błonie do wzrostu ukrwienia. Ponadto stwierdziły, że

regeneracja naczyń krwionośnych błony śluzowej dziąsła uszkodzonych poprzez elektrokoagulację trwa tylko około dwóch tygodni.

Prezentowane w obecnej pracy badania wykazały, że wywołanie wrzodów błony śluzowej dziąsła i języka prowadzi pierwotnie do spadku przepływu krwi przez błonę śluzową znajdującą się w sąsiedztwie wywołanych uszkodzeń. U zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, po jednym dniu od wywołania wrzodów, przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła był obniżony o prawie 50% w stosunku do wartości kontrolnej, a przepływ przez błonę śluzową języka o prawie 40%. Następnie dochodziło do spontanicznej regeneracji błony śluzowej i ten efekt był skojarzony z postępującą poprawą przepływu krwi przez błonę śluzową dziąsła i języka. Grelina podawana zwierzętom z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, u których nie wywoływano wrzodów jamy ustnej, pozostawała bez znamiennego wpływu na przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła i języka. Natomiast podawanie greliny u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, u których wywołano wrzody dziąsła i języka, powodowała poprawę przepływu krwi przez błonę śluzową tych narządów. W przypadku wrzodów błony śluzowej dziąsła, zastosowanie greliny w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowało znamienne statystycznie poprawę przepływu krwi przez tę błonę już po dwóch dniach stosowania greliny. W przypadku greliny stosowanej w dawce 4 nmol/kg/dawkę statystycznie znamienne poprawę przepływu krwi przez błonę śluzową dziąsła pojawiała się po czterech dniach stosowania greliny. Podobnie wyglądała sytuacja w przypadku wrzodów błony śluzowej języka. Grelina podawana w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowała, już po dwóch dniach stosowania, znamienne poprawę przepływu krwi przez błonę języka. Natomiast grelina stosowana w dawce 4 nmol/kg/dawkę dopiero po sześciu dniach podawania wywołała znamienne statystycznie wzrost przepływu krwi przez błonę śluzową języka u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, u których wywołano wrzody języka. Obserwacje powyższe pozwalają na wyciągnięcie dwóch istotnych wniosków. Grelina podawana zwierzętom z nienaruszoną błoną śluzową nie wpływa na przepływ krwi przez błonę śluzową jamy ustnej. Natomiast podawanie greliny u zwierząt z uszkodzoną błoną śluzową jamy ustnej powoduje znamienne wzrost przepływu krwi przez tę błonę, co jest jednym z czynników przyspieszających regenerację błony śluzowej. Ponadto przeprowadzone obserwacje wskazują, że zależność pomiędzy przepływem krwi przez błonę śluzową, a uszkodzeniami tej błony ma charakter dwukierunkowy. Poprawa przepływu krwi przez

błonę śluzową zmniejsza uszkodzenia tej błony, ale również zmniejszenie uszkodzeń błony śluzowej poprawia przepływ krwi przez tą błonę.

Interleukina-1 β jest dobrze znanym komponentem ostrych stanów zapalnych i odgrywa zasadniczą rolę w wywołaniu odpowiedzi ostrej fazy (Dinarello, 1991). Interleukina-1 β inicjuje tą fazę i jest odpowiedzialna za uwalnianie innych cytokin w ramach kaskady ostrej fazy. Stwierdzono, że interleukina-1 β pobudza m.in. produkcję i uwalnianie takich pro-zapalnych czynników jak czynnik martwicy guzów (tumor necrosis factor - TNF), czynnik aktywacji płytek krwi (platelet-activating factor – PAF), prostaglandyny i pro-zapalne interleukiny, wśród których należy wymienić interleukinę-2, interleukinę-3, interleukinę 4, interleukinę-5, interleukinę, interleukinę 7 oraz interleukinę 8 (Dinarello, 1991; Dinarello i Wolff, 1993). Ponadto interleukina-1 β na zasadzie sprzężenia zwrotnego dodatniego pobudza ekspresję genu ją kodującego i swoją własną produkcję (Dinarello i inni, 1987). Kluczowa rola interleukiny-1 β w rozwoju procesów zapalnych została udowodniona poprzez wykazanie, że zablokowanie działania interleukiny-1 β poprzez zastosowanie antagonisty dla receptora interleukiny-1 β hamuje syntezę i uwalnianie pro-zapalnych czynników i zmniejsza ciężkość zapalenia (Dinarello i Wolff, 1993).

Prezentowane w obecnej pracy badania nie wykazały wzrostu stężenia interleukiny-1 β w surowicy krwi w żadnej grupie zwierząt w stosunku do wartości kontrolnych. Obserwacja ta udowadnia, że wywołanie uszkodzenia błony śluzowej jamy ustnej nie wywołuje systemowego stanu zapalnego. Z drugiej strony wywołanie wrzodu dziąsła i języka prowadziło, u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, do wzrostu stężenia pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej tych narządów. Świadczy to o lokalnym stanie zapalnym ograniczonym do błony śluzowej jamy ustnej. Ponadto badania przeprowadzone na zwierzętach z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową wykazały, że podawanie greliny zwierzętom, u których nie wywoływano wrzodów jamy ustnej, nie ma wpływu na stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej jamy ustnej. Natomiast w przypadku zwierząt z wywołanymi wrzodami dziąsła i języka, podawanie greliny, w każdej z zastosowanych dawek, statystycznie obniżało stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła i języka. Obserwacja ta dowodzi, że grelina nie ma wpływu na produkcję interleukiny-1 β w prawidłowej błonie śluzowej jamy ustnej, natomiast hamuje produkcję tej prozapalnej cytokiny w stanie zapalnym, co wskazuje na kolejny mechanizm działania leczniczego greliny w gojeniu uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej. Przeprowadzone badanie nie

wyjaśniają jednak czy ten przeciwzapalny efekt greliny jest efektem pierwotnym, czy też następstwem przyspieszonej regeneracji błony śluzowej. Ta kwestia wymaga dalszych badań.

Prezentowane w obecnej pracy badania wykazały, usunięcie ślinianek podżuchowych i podjęzykowych, bez wywołania wrzodów, nie wpływa na przepływ krwi przez błonę śluzową dziąsła i języka, natomiast znamienne statystycznie zmniejsza syntezę DNA w błonie śluzowej tych narządów, co świadczy o zmniejszonej odnowie komórkowej. Dochodzi też do wzrostu stężenia pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła i języka, co świadczy o lokalnym procesie zapalnym. W ocenie makroskopowej, u zwierząt po sialadenektomii, błona śluzowa jamy ustnej jest podsychnięta i zaczerwieniona, zwierzęta mają kłopoty z połykaniem, co odpowiada klinicznemu obrazowi kserostomii prawdziwej. Natomiast obrazy histologiczne błony śluzowej jamy ustnej, uzyskanej od zwierząt z usuniętymi śliniankami, nie wykazywały zmniejszenia warstwowości tej błony i odpowiadały obrazom histologicznym błony śluzowej zwierząt kontrolnych. Ta pozorna niezgodność pomiędzy hamującym wpływem sialadenektomii na odnowę błony śluzowej dziąsła i języka (zahamowanie syntezy DNA), a prawidłowymi obrazami histologicznymi tej błony świadczy o dużych możliwościach adaptacyjnych tej błony do ograniczeń w jej odnowie komórkowej. Wystąpieniu zmian zanikowych będących wynikiem zmniejszonej proliferacji komórkowej prawdopodobnie zapobiegała zmniejszona utrata komórek w procesie złuszczenia. Tym niemniej wcześniejsze badania wykazały, że usunięcie ślinianek zaburza prawidłowy wzrost zębów (Dolce i inni, 1994) oraz powoduje w obrębie błony śluzowej języka zanik grzybowatych kubków smakowych z jednoczesnym zachowaniem normalnej struktury brodawek grzybowatych (Morris-Wiman i inni, 2000).

Zastosowanie greliny u zwierząt z usuniętymi śliniankami podżuchowymi, u których nie wywoływano wrzodów błony śluzowej jamy ustnej, powodowało poprawę odnowy komórkowej błony śluzowej dziąsła i języka, jak też obniżenie w niej stężenia pro-zapalnej interleukiny-1 β do poziomu obserwowanego u zwierząt kontrolnych. Obserwacja ta wskazuje, że podawanie greliny może być przydatne w profilaktyce mającej na celu zapobieganie uszkodzeniom błony śluzowej jamy ustnej w przypadku kserostomii prawdziwej.

Wrzody błony śluzowej dziąsła i języka wywołane u zwierząt z usuniętymi śliniankami podlegały samoistnemu gojeniu, ale dynamika tego procesu była znamienne mniejsza niż u zwierząt z zachowanymi śliniankami. Wolniej też dochodziło do poprawy

przepływu krwi przez błonę śluzową tych narządów i zmniejszona była odnowa komórkowa błony śluzowej. Natomiast stężenia pro-zapalnej interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła i języka były wyższe niż u zwierząt z zachowanymi śliniankami.

Zastosowanie greliny u zwierząt z wywołanymi wrzodami dziąsła i języka, u których wcześniej usunięto ślinianki podżuchwowe i podjęzykowe, powodowało przyspieszenie gojenia tych wrzodów. Po podaniu greliny w dawce 4 nmol/kg/dawkę wrzody błony śluzowej dziąsła i języka goiły się w tempie zbliżonym do tego, jaki obserwowano u zwierząt kontrolnych z zachowanymi śliniankami. Podobnie też obniżało się stężenie interleukiny-1 β w błonie śluzowej dziąsła i języka. Natomiast poprawa przepływu krwi przez błonę śluzową jamy ustnej i wzrost odnowy komórkowej w tej błonie po podaniu greliny w dawce 4 nmol/kg/dawkę była słabiej zaznaczona i nieznamienista statystycznie. Zwiększenie dawki greliny do 8 lub 16 nmol/kg/dawkę wywoływało podobny dla obu dawek, silny i znamienisty efekt leczniczy w gojeniu wrzodów jamy ustnej u zwierząt z usuniętymi śliniankami. Dynamika procesu regeneracyjnego była znamienne większa niż u zwierząt kontrolnych z zachowanymi śliniankami. Efektowi temu towarzyszyła znamienista poprawa przepływu krwi przez błonę śluzową dziąsła i języka, zwiększenie odnowy komórkowej w tej błonie, jak też obniżenie w niej stężenia pro-zapalnej interleukiny-1 β . Podsumowując należy stwierdzić, że ta część przeprowadzonych badań wykazała, że grelina przyspiesza gojenie uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej, jak też zmniejsza nasilenie procesów zapalnych w tej błonie śluzowej jamy ustnej w stanach obniżonej produkcji śliny. Obserwacja ta sugeruje, że grelina może być klinicznie użyteczna w leczeniu stanów zapalnych i uszkodzeń błony śluzowej w przebiegu kserostomii prawdziwej.

Uwalnianie hormonu wzrostu przez przedni płat przysadki podlega regulacji przez podwzgórze, które wydziela hormon uwalniający hormon wzrostu (growth hormone-releasing hormone – GH-RH) i somatostatynę (Devesa i inni, 1992). GH-RH działając na swoisty receptor GHRH-R pobudza syntezę i uwalnianie hormonu wzrostu, natomiast somatostatyna działając na swoje swoiste receptory somatostatynowe typu 2 i 5 (Day i inni, 1995; Mezey i inni, 1998), hamuje produkcję i uwalnianie hormonu wzrostu przez przedni płat przysadki. Późniejsze badania wykazały, że również pewne substancje o budowie peptydowej (Bowers i inni, 1984; Deghenghi i inni 1994), jak i niepeptydowej (Smith i inni, 1993) pobudzają przedni płat przysadki do wydzielania hormonu wzrostu, a mechanizm ich działania nie jest związany z receptorem GHRH-R, ale z aktywacją swoistego dla tych substancji receptora. Substancje te nazwano czynnikami

pobudzającymi uwalnianie hormonu wzrostu (growth hormone secretagogue – GHS), a receptor nazwano receptorem dla czynników pobudzających uwalnianie hormonu wzrostu (growth hormone secretagogue receptor- GHS-R). Następnie określono strukturę tego receptora i mechanizmy wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnału (Howard i inni, 1996; McKee i inni, 1997), a w 1999 roku wyizolowano w błonie śluzowej żołądka 28 aminokwasowy peptyd (Kojima i inni 1999), który okazał się być endogennym ligandem dla GHS-R. Peptyd ten otrzymał nazwę grelina, a nazwa ta powstała poprzez połączenie wywodzącego się z języków indo-europejskich rdzenia *ghre-* oznaczającego wzrost i przyrostka *-relin* oznaczającego uwalnianie (Kojima i inni 1999). Receptor GHS-R występuje głównie w przysadce i podwzgórzu, ale w niewielkim stopniu występuje również w innych narządach takich jak tarczyca, trzustka, śledziona, serce, nadnercza (Gnanapavan i inni, 2002; Kageyama i inni, 2005).

Głównym źródłem produkcji endogennej greliny jest żołądek (Kojima i inni 1999; Ariyasu i inni 2001). Drugim w kolejności źródłem greliny jest jelito cienkie, ale zawartość greliny w dwunastnicy na gram tkanki jest około 10-20 razy mniejsza niż w żołądku (Date i inni, 2000; Gnanapavan i inni, 2002). Obecność greliny odkryto też w obrębie takich narządów jak ślinianki (Gröschl i inni, 2005), zęby (Aydin i inni, 2007), trzustka, nerki, przysadka mózgowa i podwzgórze (Kojima i inni, 1999; Peeters, 2005), ale stężenia greliny w tych narządów są minimalne w porównaniu do żołądka.

Do poznanych efektów działania greliny należy silnie i dawko-zależne pobudzenie wydzielanie hormonu wzrostu z przedniej części przysadki (Kojima i inni, 1999), pobudzenie przyjmowania pokarmu (Wren i inni, 2001a; Wren i inni, 2001b), a także efekty ochronne i lecznicze. Stwierdzono między innymi, że grelina chroni serce (Frascarelli i inni, 2003), nerki (Takeda i inni, 2006) i mózg (Liu i inni, 2006) przed uszkodzeniami wywołanymi niedotlenieniem oraz zmniejsza uszkodzenia płuc i śmiertelność w przebiegu uogólnionego zakażenia (Wu i inni, 2007). W obrębie przewodu pokarmowego wykazano, że podanie greliny hamuje rozwój wrzodów żołądka wywołanych różnymi czynnikami uszkadzającymi (Sibilia i inni, 2003; Konturek i inni, 2004; Brzozowski i inni, 2004; Iseri i inni, 2005), jak też przyspiesza gojenie przewlekłych wrzodów żołądka i dwunastnicy (Dembiński i inni, 2006b; 2007).

Prezentowany w obecnej pracy leczniczy wpływ greliny w gojeniu uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej harmonijnie współgra z powyższymi obserwacjami. Rodzi się jednak pytanie czy leczniczy wpływ greliny na błonę śluzową jamy ustnej jest efektem bezpośredniego działania greliny na tą błonę, czy też efektem pośrednim

związanym z aktywacją osi hormonalnej: grelina-hormon wzrostu-IGF-1. Aby znaleźć odpowiedź na to pytanie przeprowadzono dwa typy badań. Po pierwsze u wszystkich zwierząt oznaczano stężenie greliny, hormonu wzrostu i IGF-1 w surowicy. Ponadto zbadano wpływ podawania greliny na gojenie uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej u zwierząt pozbawionych przysadki mózgowej, co pozwalało wyeliminować efekty greliny będące wynikiem jej pobudzającego działania na wydzielanie hormonu wzrostu.

Podawanie egzogennej greliny w dawce 4, 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowało, u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową oraz wywołanymi wrzodami jamy ustnej, dawko-zależny wzrost stężenia greliny w surowicy odpowiednio o 68, 174 i 261% w stosunku do wartości kontrolnych. Efektom tym towarzyszył wzrost stężenia hormonu wzrostu i IGF-1. Dawki greliny 4, 8 i 16 nmol/kg/dawkę powodowały odpowiednio wzrost stężenia hormonu wzrostu w surowicy o 73, 120 i 113%; podczas gdy stężenie IGF-1 wzrastało odpowiednio o 87, 171 i 165%. Obserwacje te wykazały, że podawanie wzrastających dawek greliny, 4 i 8 nmol/kg/dawkę powoduje dawkozależny wzrost stężenia hormonu wzrostu i IGF-1 w surowicy badanych zwierząt; przy dawce 8 nmol/kg/dawkę osiągany jest największy wzrost uwalniania hormonu wzrostu i IGF-1. Natomiast przekroczenie tej dawki nie wywołuje już dalszego wzrostu uwalniania hormonu wzrostu i IGF-1. Dane te dobrze korespondują z wpływem greliny na gojenie wrzodów jamy ustnej. Również tutaj podawanie, u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, wzrastających dawek greliny 4 i 8 nmol/kg/dawkę powodowało zwiększanie jej efektów leczniczych, natomiast przekroczenie dawki 8 nmol/kg/dawkę nie zwiększało już jej efektu terapeutycznego. Jeżeli te obserwacje połączymy razem, nasuwa się nieodparte wrażenie, że efekty lecznicze greliny w gojeniu wrzodów jamy ustnej są efektami pośrednimi wynikającymi z jej wpływu na uwalnianie hormonu wzrostu i IGF-1. Tym bardziej, że podobne efekty podawania greliny były obserwowane u zwierząt z usuniętymi śliniankami i zachowaną przysadką mózgową.

Celem potwierdzenia tej hipotezy wykonano badania na zwierzętach z usuniętą przysadką mózgową. Usunięcie przysadki powodowało spadek stężenia hormonu wzrostu w surowicy poniżej poziomu detekcji metody, co świadczy o dokładnym i całkowitym usunięciu przysadki mózgowej. Natomiast poziom IGF-1 spadał do poziomu około 10% stężenia obserwowanego u kontrolnych zwierząt z zachowaną przysadką mózgową. To spostrzeżenie świadczy, że produkcja i uwalnianie IGF-1 jest zależna głównie od hormonu wzrostu, co jest zgodne z wcześniejszymi obserwacjami (Zapf i

Froesch, 1986). Z kolei stężenie endogennej greliny u zwierząt z usuniętą przysadką znamienne wzrastało powyżej wartości kontrolnych, co świadczy o regulacji surowiczego poziomu endogennej greliny przez hormon wzrostu na zasadzie sprzężeń zwrotnych ujemnych i znajduje potwierdzenie we wcześniej przeprowadzonych badaniach (Tschöp i inni, 2002).

Natomiast usunięcie przysadki mózgowej nie miało wpływu, u zwierząt bez wywoływania wrzodów dziąsła i języka, na morfologię błony śluzowej jamy ustnej, przepływ krwi, stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β oraz odnowę komórkową w tej błonie. Obserwacja ta jest w częściowej sprzeczności z obserwacjami dokonanymi w żołądku. Crean (1968) oraz Crean i inni (1971) wykazali, że usunięcie przysadki mózgowej prowadzi do atrofii żołądka, co wyraża się zmniejszeniem masy żołądka, redukcją powierzchni błony śluzowej oraz ograniczeniem całkowitej ilości żołądkowych komórek okładzinowych i głównych. Te różnice, pomiędzy efektami usunięcia przysadki na morfologię błony śluzowej jamy ustnej i żołądka, wskazują, że poszczególne odcinki przewodu pokarmowego charakteryzują różnymi mechanizmami regulacji odnowy błony śluzowej. Prezentowane w obecnej pracy obserwacje dotyczące wpływu usunięcia ślinianek i przysadki mózgowej na odnowę błony śluzowej jamy ustnej jednoznacznie wskazują, że w przypadku jamy ustnej, głównym czynnikiem pobudzającym odnowę komórkową błony śluzowej i warunkującym zachowanie jej integralności jest ślina z zawartymi w niej czynnikami wzrostowymi, a nie hormon wzrostu. Konkluzja ta dodatkowo znajduje dodatkowe poparcie w obserwacjach dotyczących wpływu usunięcia przysadki mózgowej na gojenie wrzodów błony śluzowej dziąsła i języka. Usunięcie przysadki było bez znamiennego statystycznie wpływu na szybkość gojenia wrzodów, syntezę DNA w błonie śluzowej dziąsła i języka, ani też nie wpływało na przepływ krwi przez błonę śluzową w tych narządach i stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β .

Kolejną ważną obserwacją prezentowanej pracy jest określenie wpływu podawania greliny na gojenie wrzodów dziąsła i języka u zwierząt z usuniętą przysadką mózgową. Usunięcie przysadki całkowicie znosiło pobudzający wpływ podawania greliny na uwalnianie hormonu wzrostu i IGF-1, i ten efekt był skojarzony z całkowitym brakiem korzystnego wpływu podawania greliny na gojenie wrzodów jamy ustnej, odnowę komórkową błony śluzowej dziąsła i języka, przepływ krwi przez tę błonę, jak stężenie zawartej w niej pro-zapalnej interleukiny-1 β . Należy też podkreślić, że w grupie zwierząt z usuniętą przysadką mózgową dochodziło do znacznego wzrostu endogennego stężenia greliny w osoczu. Wzrostowi temu nie towarzyszył jednak efekt leczniczy w gojeniu

wrzodów błony śluzowej jamy ustnej. Obserwacje te wyraźnie wskazują, że lecznicze efekty greliny w gojeniu uszkodzeń błony śluzowej dziąsła i języka nie są efektami jej bezpośredniego działania na błonę śluzową jamy ustnej, ale wynikają z jej pobudzającego wpływu na uwalnianie hormonu wzrostu i IGF-1.

Czynniki wzrostowe (growth factors) są grupą związków o budowie peptydowej. Wykazują one działanie hormonalne, a uwalnianie są przez komórki somatyczne, co powoduje, że zaliczane są do cytokin. Działają one na komórki docelowe głównie poprzez receptory związane z aktywacją kinazy tyrozynowej (Hilton, 1997). Czynniki wzrostowe regulują procesy rozwoju, dojrzewania i regeneracji narządowej (Bondy i inni, 1990; Michalopoulos, 1990; Kiehne i inni, 2001). Należy jednak stwierdzić, że z ich aktywnością wiąże się też rozwój nowotworów (Weidner i inni, 1990; Heldin i Westermark, 1990; Fausto, 1991; Kiehne i inni, 2001). Dlatego istotne jest, aby środek zastosowany w leczeniu uszkodzeń błony śluzowej nie prowadził do jej przerostu. Prezentowane obecnie badania wykazały, że podawanie greliny u zwierząt z nienaruszoną błoną śluzową nie prowadzi do pobudzenia proliferacji komórkowej w tej błonie i jej przerostu. Natomiast podanie greliny u zwierząt z atrofią błony śluzowej wywołaną sialoadenektomią, powoduje pobudzenie odnowy komórkowej, co pozwala na osiągnięcie przez nią wartości zbliżonych do poziomu obserwowanego u zwierząt kontrolnych. Obserwacje te wskazują, że stosowanie greliny w terapii uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej jest działaniem bezpiecznym niepowodującym wzrostu zagrożenia w postaci rozwoju choroby nowotworowej.

6. WNIOSKI

1. Podawanie greliny zwierzętom z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, u których nie wywoływano uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej, nie powoduje przerostu błony śluzowej jamy ustnej.
2. Podawanie greliny, u zwierząt z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, przyspiesza gojenie uszkodzeń błony śluzowej dziąsła i języka.
3. Ten leczniczy efekt skojarzony jest z pobudzeniem proliferacji komórkowej błony śluzowej jamy ustnej, poprawą przepływu krwi przez tę błonę oraz zmniejszeniem lokalnego odczynu zapalnego.
4. Usunięcie ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych powoduje zmniejszenie odnowy komórkowej i powstanie lokalnego odczynu zapalnego w błonie śluzowej jamy ustnej oraz spowalnia gojenie jej uszkodzeń.
5. Podawanie greliny wykazuje działanie lecznicze u zwierząt z usuniętymi śliniankami przyspieszając gojenie wrzodów jamy ustnej.
6. Usunięcie przysadki mózgowej podnosi poziom endogennej greliny, ale nie ma znamiennego wpływu na stan nienaruszonej błony śluzowej jamy ustnej, jak też pozostaje bez znamiennego wpływu na gojenie uszkodzeń błony śluzowej jamy ustnej.
7. Usunięcie przysadki mózgowej znosi pobudzające działanie greliny na uwalnianie hormonu wzrostu i IGF-1, jak też znosi leczniczy efekt podawania greliny na gojenie wrzodów błony śluzowej jamy ustnej. Obserwacja ta dowodzi, że leczniczy efekt greliny w gojeniu wrzodów błony śluzowej jamy ustnej jest efektem pośrednim, zależnym od uwalniania hormonu wzrostu i IGF-1.

7. STRESZCZENIE

Wcześniejsze badania wykazały, że grelina działa ochronnie na żołądek i trzustkę, oraz przyspiesza gojenie błony śluzowej żołądka i dwunastnicy. Celem obecnej pracy było zbadanie wpływu podawania greliny na zachowanie integralności błony śluzowej jamy ustnej, jak też na gojenie przewlekłych wrzodów tej błony. Ponadto określono rolę hormonu wzrostu i insulino-podobnego czynnika wzrostu-1 (insulin-like growth factor-1 - IGF-1) w tych efektach.

Metodyka: Badania zostały przeprowadzone na trzech grupach zwierząt: (1) szczurach z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową; (2) szczurach z usuniętymi śliniankami podżuchwowymi i podjęzykowymi (sialoadenektomia) i zachowaną przysadką mózgową; (3) szczury z usuniętą przysadką mózgową (hypofyzektomia) i zachowanymi śliniankami. Przewlekłe wrzody dziąsła i języka wywołane zostały za pomocą kwasu octowego. Po wywołaniu wrzodów, szczury otrzymywały dwa razy dziennie sól fizjologiczną lub grelinę podawaną w dawce 4, 8 lub 16 nmol/g/dawkę przez 6 dni. Również zwierzęta, u których nie wywoływano wrzodów otrzymywały sól fizjologiczną lub grelinę (8 nmol/kg/dawkę) przez 6 dni.

Wyniki: Podawanie greliny zwierzętom z zachowanymi śliniankami i nienaruszoną przysadką mózgową, u których nie wywołano wrzodów jamy ustnej, nie miało wpływu na morfologię błony śluzowej jamy ustnej, przepływ krwi przez tą błonę, jak też dynamikę odnowy komórkowej tej błony. Podawanie zwierzętom z tej grupy greliny po wywołaniu wrzodów dziąsła i języka, znamienne statystycznie przyspieszało gojenie tych wrzodów. Grelina podawana w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę wywoływała najsilniejszy i podobny efekt leczniczy. Ten efekt był skojarzony ze znamienym wzrostem przepływu krwi przez błonę śluzową dziąsła i języka oraz wzrostem odnowy komórkowej w tej błonie z jednoczesnym spadkiem stężenia znajdującej się w niej pro-zapalnej interleukiny-1 β .

Usunięcie ślinianek podżuchwowych i podjęzykowych przy zachowanej przysadce mózgowej prowadziło, u zwierząt, u których nie wywoływano wrzodów błony śluzowej jamy ustnej, do zmniejszenia odnowy komórkowej błony śluzowej dziąsła i języka oraz zwiększało stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w tej błonie. Ponadto sialoadenektomia powodowała spowolnienie spontanicznego gojenia wrzodów dziąsła i języka, i temu efektowi towarzyszyło, tak jak u zwierząt, u których nie wywoływano wrzodów,

zmniejszenie proliferacji komórkowej w błonie śluzowej jamy ustnej, spadek przepływu krwi przez tą błonę oraz dodatkowe zwiększenie stężenia obecnej w niej interleukiny-1 β w tej błonie. Podawanie greliny odwracało wywołane sialoadenektomią zmiany w błonie śluzowej dziąsła i języka u zwierząt bez wrzodów, jak i z wywołanymi wrzodami jamy ustnej. Ponadto u zwierząt ze wrzodami podanie greliny przyspieszało gojenie tych wrzodów. Grelina podawana w dawce 8 lub 16 nmol/kg/dawkę powodowała, że wrzody dziąsła i języka u zwierząt z usuniętymi śliniankami goiły się znamienne szybciej niż wrzody u zwierząt kontrolnych bez sialoadenektomii i podawania greliny.

Usunięcie przysadki mózgowej, bez wywoływania wrzodów błony śluzowej jamy ustnej, nie miało wpływu na morfologię, odnowę komórkową i przepływ krwi przez błonę śluzową jamy ustnej, jak też stężenie pro-zapalnej interleukiny-1 β w tej błonie. Również u zwierząt z wywołanymi wrzodami dziąsła i języka, wcześniejsze usunięcie przysadki mózgowej pozostawało bez wpływu na gojenie tych wrzodów, jak i przepływ krwi, odnowę komórkową i stężenie interleukiny-1 w błonie śluzowej dziąsła i języka. Z drugiej strony, hypofyzektomia znosiła lecznicze działanie greliny na gojenie wrzodów i inne parametry stanu błony śluzowej jamy ustnej.

U zwierząt z nienaruszonymi śliniankami i zachowaną przysadką mózgową, jak i u zwierząt z usuniętymi śliniankami i zachowaną przysadką, leczniczy efekt greliny w gojeniu wrzodów błony śluzowej jamy ustnej wykazywał ścisłą zależność od wywołanego przez grelinę wzrostu hormonu wzrostu i IGF-1 w surowicy. Usunięcie przysadki powodowało znamienne wzrost stężenia endogennej greliny w surowicy, spadek stężenia hormonu wzrostu poniżej poziomu detekcji i obniżenie stężenia IGF-1 w surowicy o 90%. Podawanie egzogennej greliny nie miało wpływu na stężenie hormonu wzrostu i IGF-1 w surowicy zwierząt pozbawionych przysadki mózgowej.

Wnioski: Podawanie greliny przyspiesza gojenie przewlekłych wrzodów błony śluzowej dziąsła i języka u zwierząt z pierwotnie prawidłową błoną śluzową jamy ustnej, jak i u zwierząt po sialoadenektomii. Ten terapeutyczny efekt greliny jest zależny od wywołanego przez grelinę uwalniania endogennego hormonu wzrostu i IGF-1.

Usunięcie przysadki mózgowej znosi pobudzające działanie greliny na uwalnianie hormonu wzrostu i IGF-1, co prowadzi do zniesienia terapeutycznego efektu greliny w gojeniu wrzodów błony śluzowej jamy ustnej.

8. SUMMARY

Recent studies have shown that ghrelin exhibits protective effect in the stomach and pancreas and accelerates the healing of gastric and duodenal mucosa. The aim of present study was to examine the influence of ghrelin administration on oral mucosa integrity and healing of chronic oral ulcers, as well as to evaluate the role of growth hormone and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in these processes.

Methods: Studies were performed on three groups of animals: (1) pituitary- and salivary-intact rats; (2) sialoadenectomized rats with intact pituitary; (3) hypophysectomized rats with intact salivary glands. Chronic ulcers of the gingiva and tongue were induced by acetic acid. After induction of ulcers, rats were treated intraperitoneally twice a day with saline or ghrelin (4, 8 or 16 nmol/kg/dose) for six days. Also animals without induction of ulcers were treated with saline or ghrelin (8 nmol/kg/dose) for six days.

Results: In animals with intact pituitary and salivary glands without induction of oral ulcers, treatment with ghrelin was without effect on oral mucosa morphology, mucosal blood flow or cell proliferation in oral mucosa. In rats with intact pituitary and salivary glands, administration of ghrelin, after induction of gingival and lingual ulcers, significantly increased healing rate of these ulcers. Ghrelin given at the dose of 8 or 16 nmol/kg/dose caused the strongest and similar therapeutic effect. This result was associated by a significant increase in blood flow and cell proliferation in gingival and lingual mucosa, as well as by a significant decrease in mucosal concentration of pro-inflammatory interleukin-1 β .

Sialoadenectomy alone, without induction of ulcers, caused a reduction in cell proliferation and an increase in concentration of pro-inflammatory interleukin-1 β in oral mucosa. In these sialoadenectomized rats, administration of ghrelin reversed the sialoadenectomy-induced reduction in cell proliferation and decreased the sialoadenectomy-induced increase in concentration of pro-inflammatory interleukin-1 β in gingival and lingual mucosa. In sialoadenectomized rats with induction of gingival and lingual ulcers, healing rate of these ulcers was reduced. As in rats without induction of ulcers, this effect was associated with a reduction in blood flow and cell proliferation in oral mucosa, as well as with an additional increase in mucosal concentration of pro-inflammatory interleukin-1 β . In these rats, administration of ghrelin reversed deleterious

effect of sialoadenectomy and ghrelin given at the dose of 8 or 16 nmol/kg/dose increased the healing rate of oral ulcers above a value observed in control rats with intact salivary glands.

Hypophysectomy alone was without effect on morphology, cell proliferation, blood flow and concentration of interleukin-1 β in oral mucosa. Also, in rats with induction of oral mucosa ulcers, hypophysectomy failed to affect the healing rate of these ulcers or blood flow, cell proliferation or concentration of interleukin-1 β in gingival and lingual mucosa. On the other hand, administration of ghrelin was without any effect on healing rate and other parameters in oral mucosa in hypophysectomized rats.

In salivary- and pituitary-intact rats, as well as in sialoadenectomized rats with intact pituitary, therapeutic effect of ghrelin in the healing of oral mucosa ulcers was well-correlated with the ghrelin-induced increase in serum concentration of growth hormone and IGF-1. Hypophysectomy increased serum concentration of endogenous ghrelin, but serum concentration of growth hormone was reduced below limit of detection, whereas IGF-1 was decreased by 90%. Administration of exogenous ghrelin failed to affect serum concentration of growth hormone or IGF-1 in hypophysectomized rats.

Conclusions: Treatment with ghrelin accelerates healing of chronic ulcers gingival and lingual mucosa in rat with a primary normal oral mucosa, as well as in rats with a reduction of mucosa cell proliferation evoked by sialoadenectomy. This therapeutic effect of ghrelin is mediated by the release of endogenous growth hormone and IGF-1. Hypophysectomy abolishes stimulatory effect of ghrelin on the release of growth hormone and IGF-1, and eliminates the therapeutic effect of ghrelin on the healing of oral mucosa ulcers.

Bibliografia

1. Abe S, Sasano H, Katoh K, Ohara S, Arikawa T, Noguchi T, Asaki S, Yasui W, Tahara E, Nagura H, Toyota T. Immunohistochemical studies on EGF family growth factors in normal and ulcerated human gastric mucosa. *Dig Dis Sci.* 1997; 42: 1199-1209.
2. Abdel-Salam OM, Czimmer J, Debreceni A, Szolcsányi J, Mózsik G. Gastric mucosal integrity: gastric mucosal blood flow and microcirculation. An overview *J Physiol Paris* 2001; 95: 105-127.
3. Akbulut KG, Gonul B, Turkyilmaz A, Celebi N. The role of epidermal growth factor formulation on stress ulcer healing of the gastric mucosa. *Surg Today.* 2002; 32: 880-883.
4. Allen A, Flemstrom G, Garner A, Kivilaakso E. Gastroduodenal mucosal protection. *Physiol Rev* 1993; 73: 823-857.
5. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Suda M, Koh T, Natsui K, Toyooka S, Shirakami G, Usui T, Shimatsu A, Doi K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4753-4758.
6. Aydin S, Ozercan IH, Geckil H, Dagli F, Aydin S, Kumru S, Kilic N, Sahin I, Ozercan MR. Ghrelin is present in teeth. *J Biochem Mol Biol* 2007; 40: 368-372.
7. Bondy CA, Werner H, Roberts CT Jr, LeRoith D. Cellular pattern of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and type I IGF receptor gene expression in early organogenesis: comparison with IGF-II gene expression. *Mol Endocrinol* 1990; 4: 1386-1398.
8. Bowers CY, Momany FA, Reynolds GA, Hong A. On the in vitro and in vivo activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. *Endocrinology* 1984; 114: 1537-1534.
9. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72:248-2454.

10. Broglio F, Benso A, Castiglioni C, Gottero C, Prodam F, Destefanis S, Gauna C, van der Lely AJ, Deghenghi R, Bo M, Arvat E, Ghio E. The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1537-1542.
11. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Stachura J. Gastric adaptation to aspirin and stress enhances gastric mucosal resistance against the damage by strong irritants. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 118-125.
12. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Kwiecień S, Drozdowicz D, Bielanski W, Pajdo R, Ptak A, Nikiforuk A, Pawlik WW, Hahn EG. Exogenous and endogenous ghrelin in gastroprotection against stress-induced gastric damage. *Regul Pept* 2004; 120: 39-51.
13. Cohen S. Isolation of mouse submandibular gland protein accelerating incisor eruption and eyed opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 1962; 237: 1555-1562.
14. Coyle WJ, Sedlack RE, Nemeč R, Peterson R, Duntemann T, Murphy M, Lawson JM. Eradication of *Helicobacter pylori* normalizes elevated mucosal levels of epidermal growth factor and its receptor. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2885-2889.
15. Crean GP. Effect of hypophysectomy on the gastric mucosa of the rat. *Gut* 1968; 9: 332-342.
16. Crean GP, Rumsey RD, Wheeler SM. Further observations concerning the effects of hypophysectomy on the gastric mucosa of the rat *Gut*. 1971; 12: 721-726.
17. Cummings DE, Shannon MH. Roles for ghrelin in the regulation of appetite and body weight *Arch Surg* 2003; 138: 389-396.
18. Cutright DE, Bauer H. Cell renewal in the oral mucosa and skin of the rat. I. Turnover time. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1967; 23: 249-259.
19. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000; 141: 4255-4261.
20. Day R, Dong W, Panetta R, Kraicer J, Greenwood MT, Patel YC. Expression of mRNA for somatostatin receptor (sstr) types 2 and 5 in individual rat

- pituitary cells. A double labeling in situ hybridization analysis. *Endocrinology* 1995; 136: 5232-5235.
21. Deghenghi R, Cananzi MM, Torsello A, Battisti C, Muller EE, Locatelli V. GH-releasing activity of hexarelin, a new growth hormone releasing peptide, in infant and adult rats. *Life Sci* 1994; 54: 1321-1328.
 22. Dembiński A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Tomaszewska R, Stachura J, Konturek SJ, Konturek PC. Ghrelin attenuates the development of acute pancreatitis in rats. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54: 561-573.
 23. Dembiński A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Bielański W, Cieszkowski J, Dembiński M, Pawlik WW, Kuwahara A, Kato I, Konturek PC.. Variable effect of ghrelin administration on pancreatic development in young rats. Role of insulin-like growth factor-1. *J Physiol Pharmacol* 2005a; 56: 555-570.
 24. Dembiński A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Brzozowski T, Dembiński M, Konturek SJ, Pawlik WW. Role of capsaicin-sensitive nerves and histamine H1, H2, and H3 receptors in the gastroprotective effect of histamine against stress ulcers in rats. *Eur J Pharmacol* 2005b; 508: 211-221.
 25. Dembiński A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Cieszkowski J, Pawlik WW, Tomaszewska R, Kuśnierz-Cabala B, Naskalski JW, Kuwahara A, Kato I. Role of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in the protective effect of ghrelin in ischemia/reperfusion-induced acute pancreatitis. *Growth Horm IGF Res* 2006a; 16: 348-356.
 26. Dembiński A, Warzecha Z, Sendur R, Ceranowicz P, Cieszkowski J, Dembiński M, Pawlik WW, Konturek PC, Kuwahara A, Kato I.. Effect of ghrelin administration on the healing of chronic duodenal ulcers in rats. Role of growth hormone and insulin-like growth factor-1. *Gastroenterology* 2006b; 130(Suppl 2): A-330.
 27. Dembiński A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Cieszkowski J, Dembiński M, Sendur R, Pawlik WW, Kuwahara A, Kato I, Konturek PC. Therapeutic effect of exogenous ghrelin in chronic gastric ulcers in rats. Involvement of growth hormone and IGF-1. *Gastroenterology* 2007; 132(Suppl 2): A-383.
 28. Devesa J, Lima L, Tresguerres JA. Neuroendocrine control of growth hormone secretion in humans. *Trends Endocrinol Metab* 1992; 3: 175-183.
 29. Dinarello CA, Ikejima T, Warner SJ, Orencole SF, Lonnemann G, Cannon JG, Libby P. Interleukin 1 induces interleukin 1. I. Induction of circulating

- interleukin 1 in rabbits in vivo and in human mononuclear cells in vitro. *J Immunol* 1987; 139: 1902-1910.
30. Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991; 77: 1627-1652.
 31. Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 1993; 328: 106-113.
 32. Dolce C, Anguita J, Brinkley L, Karnam P, Humphreys-Beher M, Nakagawa Y, Keeling S, King G. Effects of sialoadenectomy and exogenous EGF on molar drift and orthodontic tooth movement in rats. *Am J Physiol* 1994; 266: E731-E738.
 33. Drobni P, Näslund j, Evander M. Lactoferrin inhibits human papillomavirus binding and uptake in vitro. *Antiviral Res* 2004; 64: 63-68.
 34. Falconi G, Rossi GL. Transauricular hypophysectomy in rats and mice. *Endocrinology* 1964; 74: 301-303.
 35. Fausto N. Growth factors in liver development, regeneration and carcinogenesis. *Prog Growth Factor Res* 1991; 3: 219-234.
 36. Fiddian-Green RG, McGough E, Pittenger G, Rothman E. Predictive value of intramural pH and other risk factors for massive bleeding from stress ulceration. *Gastroenterology* 1983; 85: 613-620.
 37. Frascarelli S, Ghelerdoni S, Ronca-Testoni S, Zucchi R. Effect of ghrelin and synthetic growth hormone secretagogues in normal and ischemic rat heart. *Basic Res Cardiol* 2003; 98: 401-405.
 38. Game SM, Stone A, Scully C, Prime SS. Tumour progression in experimental oral carcinogenesis is associated with changes in EGF and TGF-beta receptor expression and altered responses to these growth factors. *Carcinogenesis* 1990; 11: 965-973.
 39. Giles KW, Myers A. An improvement of diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature* 1965; 206: 93.
 40. Gillespie GM. Renewal of buccal epithelium. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1969; 27: 83-89.
 41. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2988-2991.

42. Gröschl M, Topf HG, Bohlender J, Zenk J, Klusmann S, Dötsch J, Rascher W, Rauh M. Identification of ghrelin in human saliva: production by the salivary glands and potential role in proliferation of oral keratinocytes. *Clin Chem* 2005; 51: 997-1006.
43. Grünwald V, Hidalgo M. Developing inhibitors of the epidermal growth factor receptor for cancer treatment. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 851-867.
44. Hamilton AI, Blackwood HJ. Cell renewal of oral mucosal epithelium of the rat. *J Anat* 1974; 117: 313-327.
45. Hamosh M. Lingual and gastric lipases. *Nutrition* 1990; 6: 421-428.
46. Hay DI, Schluckebier SK, Moreno EC. Equilibrium dialysis and ultrafiltration studies of calcium and phosphate binding by human salivary proteins. Implications for salivary supersaturation with respect to calcium phosphate salts. *Calcif Tissue Int* 1982; 34: 531-538.
47. Hay DI, Smith DJ, Schluckebier SK, Moreno EC. Relationship between concentration of human salivary statherin and inhibition of calcium phosphate precipitation in stimulated human parotid saliva. *J Dent Res* 1984; 63: 857-863.
48. Heft MW, Baum BJ. Unstimulated and stimulated parotid salivary flow rate in individuals of different ages. *J Dent Res* 1984; 63: 1182-1185.
49. Heldin CH, Westermark B. Platelet-derived growth factor: mechanism of action and possible in vivo function. *Cell Regul.* 1990; 1: 555-566.
50. Hilton DJ. An introduction to cytokine receptors, w *Guidebook to cytokines and their receptors*. Nicola NA (ed.), A Sambrook & Tooze Publication at Oxford University Press, Oxford 1997, pp: 8-16.
51. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberatore PA, Rosenblum CI, Hamelin M, Hreniuk DL, Palyha OC, Anderson J, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996; 273: 974-977.
52. Iseri SO, Sener G, Yuksel M, Contuk G, Cetinel S, Gedik N, Yegen BC. Ghrelin against alendronate-induced gastric damage in rats. *J Endocrinol* 2005; 187: 399-406.
53. Ito T, Komiya-Ito A, Arataki T, Furuya Y, Yajima Y, Yamada S, Okuda K, Kato T. Relationship between antimicrobial protein levels in whole saliva and periodontitis. *J Periodontol* 2008; 79: 316-322.

54. Itoh M, Joh T, Imai S, Miyamoto T, Matsusako K, Iwai A, Katsumi K, Endo K, Goto K, Takeuchi T. Experimental and clinical studies on epidermal growth factor for gastric mucosal protection and healing of gastric ulcers. *J Clin Gastroenterol* 1988; 10(Suppl 1): S7-12.
55. Itoh M, Matsuo Y. Gastric ulcer treatment with intravenous human epidermal growth factor: a double-blind controlled clinical study. *J Gastroenterol Hepatol.* 1994; 9(Suppl 1): S78-83.
56. Jańczuk Z. Choroby błony śluzowej jamy ustnej. Symptomatologia ogólna, w *Zarys Kliniczny stomatologii zachowawczej*. Jańczuk Z (ed.), Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1981, pp 487-575.
57. Kageyama H, Funahashi H, Hirayama M, Takenoya F, Kita T, Kato S, Sakurai J, Lee EY, Inoue S, Date Y, Nakazato M, Kangawa K, Shioda S. Morphological analysis of ghrelin and its receptor distribution in the rat pancreas. *Regul Pept* 2005; 126: 67-71.
58. Kiehne K, Otte JM, Fölsch UR, Herzig KH. Growth factors in development and diseases of the exocrine pancreas. *Pancreatology.* 2001; 1: 15-23.
59. Kindlova M, Scheinin A. The vascular supply of the gingiva and the alveolar mucosa in the rat. II. Spontaneous and experimentally induced changes of the microcirculation. *Acta Odontol Scand* 1968; 26: 629-640.
60. Klussmann JP, Guntinas-Lichius O, Heilig B, Wagner M, Jungehülsing M, Michel O. Sjögren syndrome and bilateral MALT lymphoma of the parotid gland. *HNO* 1999; 47: 637-641.
61. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660.
62. Konturek SJ, Dembinski A, Warzecha Z, Brzozowski T, Gregory H. Role of epidermal growth factor in healing of chronic gastroduodenal ulcers in rats. *Gastroenterology* 1988; 94: 1300-1307.
63. Konturek JW, Bielanski W, Konturek SJ, Bogdal J, Oleksy J. Distribution and release of epidermal growth factor in man. *Gut.* 1989; 30: 1194-1200.
64. Konturek SJ. Role of growth factors in gastroduodenal protection and healing of peptic ulcers. *Gastroenterol Clin North Am* 1990; 19: 41-65.
65. Konturek PC, Ernst H, Brzozowski T, Ihlm A, Hahn EG, Konturek SJ. Expression of epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha

- after exposure of rat gastric mucosa to stress. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 209-216.
66. Konturek SJ. Czynności wydzielnicze gruczołów trawiennych; w *Fizjologia człowieka. Tom V. Układ trawienny i wydzielanie wewnętrzne*. Konturek SJ (ed.), Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2000, pp 55-63.
67. Konturek PC, Brzozowski T, Pajdo R, Nikiforuk A, Kwiecień S, Harsch I, Drozdowicz D, Hahn EG, Konturek SJ. Ghrelin-a new gastroprotective factor in gastric mucosa. *J Physiol Pharmacol* 2004; 55: 325-336.
68. Kucharz E. Układowe zapalne choroby tkanki łącznej (kolagenozy), w *Choroby wewnętrzne, tom 3*. Wojtczak A (ed.), Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1995, pp 418-445.
69. Kwiecień S, Pawlik MW, Brzozowski T, Konturek PC, Śliwowski Z, Pawlik WW, Konturek SJ. Nitric oxide (NO)-releasing aspirin and (NO) donors in protection of gastric mucosa against stress. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59(Suppl 2): 103-115.
70. Lahoz E, Pisacane A, Iannaccone M, Palumbo D, Capparelli R. Fungistatic activity of iron-free bovin lactoferrin against several fungal plant pathogens and antagonists. *Nat Prod Res* 2008; 22: 955-961.
71. Lamkin MS, Oppenheim FG. Structural features of salivary function. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4: 251-259.
72. Leung FW, Reedy TJ, Van Deventer GM, Guth PH. Reduction in index of oxygen saturation at margin of active duodenal ulcers may lead to slow healing. *Dig Dis Sci* 1989; 34: 417-423.
73. Liu Y, Wang PS, Xie D, Liu K, Chen L. Ghrelin reduces injury of hippocampal neurons in a rat model of cerebral ischemia/reperfusion. *Chin J Physiol* 2006; 49: 244-250.
74. MacKay BJ, Denepitiya L, Iacono VL, Krost SB, Pollock JJ. Growth-inhibitory and bactericidal effects of human parotid salivary histidine-rich polypeptides on *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 1984; 44: 695-701.
75. McKee KK, Palyha OC, Feighner SD, Hreniuk DL, Tan CP, Phillips MS, Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD. Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors *Mol Endocrinol* 1997; 11: 415-423.

76. Mendelsohn J. Targeting the epidermal growth factor receptor for cancer therapy. *J Clin Oncol* 2002; 20(18 Suppl): 1S-13S.
77. Mezey E, Hunyady B, Mitra S, Hayes E, Liu Q, Schaeffer J, Schonbrunn A. Cell specific expression of the sst2A and sst5 somatostatin receptors in the rat anterior pituitary. *Endocrinology* 1998; 139: 414-419.
78. Michalopoulos GK. Liver regeneration: molecular mechanisms of growth control. *FASEB J.* 1990; 4: 176-187.
79. Morris-Wiman J, Sego R, Brinkley L, Dolce C. The effects of sialoadenectomy and exogenous EGF on taste bud morphology and maintenance. *Chem Senses* 2000; 25: 9-19.
80. Moutsopoulos HM. Zespół Sjögrena. w *Interna Harisona*. Fauci AS, Braunwald E, Isselbach KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL Hauser SL, Longo DL (eds). Wydawnictwo Czelej Sp. z o.o., Lublin, 1999, pp. 3220-3222.
81. Nauntofte B, Jensen JL. Salivary secretion. w *Textbook of gastroenterology*. 3rd edition. Yamada T (ed.). Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos Aires, Hong Kong, Sydney, Tokyo, 1999.
82. Nexø E, Olsen PS, Poulsen K. Exocrine and endocrine secretion of renin and epidermal growth factor from the mouse submandibular glands. *Regul Pept* 1984; 8: 327-334.
83. Oppenheim FG, Xu T, McMillian FM, Levitz SM, Diamond RD, Offner GD, Troxler RF. Histatins, a novel family of histidine-rich proteins in human parotid secretion. Isolation, characterization, primary structure, and fungistatic effects on *Candida albicans*. *J Biol Chem* 1988; 263: 7472-7477.
84. Oudhoff MJ, Bolscher JG, Nazmi K, Kalay H, van 't Hof W, Amerongen AV, Veerman EC. Histatins are the major wound-closure stimulating factors in human saliva as identified in a cell culture assay. *FASEB J* 2008; 22: 3805-3812.
85. Ozanne B, Richards CS, Hendker F, Burns D, Gusterson B. Over-expression of the EGF receptor is a hallmark of squamous cell carcinomas. *J Pathol* 1986; 149: 9-14.
86. Palomino A, Hernandez-Bernal F, Haedo W, Franco S, Mas JA, Fernandez JA, Soto G, Alonso A, Gonzalez T, Lopez-Saura P. A multicenter,

- randomized, double-blind clinical trial examining the effect of oral human recombinant epidermal growth factor on the healing of duodenal ulcers. *Scand J Gastroenterol.* 2000; 35: 1016-1022.
87. Peeters TL. Ghrelin: a new player in the control of gastrointestinal functions. *Gut* 2005; 54: 1638-1649.
 88. Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, Afonso A, Monroy D. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 1999; 19: 201-211.
 89. Playford RJ, Boulton R, Ghatei MA, Bloom SR, Wright NA, Goodlad RA. Comparison of the effects of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor on gastrointestinal proliferation and hormone release. *Digestion* 1996; 57: 362-367.
 90. Presland RB, Jurevic RJ. Making sense of the epithelial barrier: what molecular biology and genetics tell us about the functions of oral mucosal and epidermal tissues. *J Dent Educ* 2002; 66: 564-574.
 91. Roberts IM, Jaffe R. Lingual lipase: immunocytochemical localization in the rat von Ebner gland. *Gastroenterology* 1986; 90: 1170-1175.
 92. Salton MRJ. The properties of lysozyme and its action on microorganisms. *Bact Rev* 1957; 21: 82-99.
 93. Sciubba JJ, Waterhouse JP, Meyer J. A fine structural comparison of the healing of incisional wounds of mucosa and skin. *J Oral Pathol* 1978; 7: 214-227.
 94. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, Nozoe S, Hosoda H, Kangawa K, Matsukura S. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 240-244.
 95. Sibilía V, Rindi G, Pagani F, Rapetti D, Locatelli V, Torsello A, Campanini N, Deghenghi R, Netti C. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology* 2003; 144: 353-359.
 96. Smith RG, Cheng K, Schoen WR, Pong SS, Hickey G, Jacks T, Butler B, Chan WW, Chung LY, Judith F, et al. A nonpeptidyl growth hormone secretagogue. *Science.* 1993; 260:1640-1643.

97. Soler C, Carpenter G. The epidermal growth factor family, w *Guidebook to cytokines and their receptors*. Nicola NA (ed.), A Sambrook & Tooze Publication at Oxford University Press, Oxford-New York-Tokyo 1997, pp 194-197.
98. Sorbye H, Svanes K. The role of blood flow in gastric mucosal defence, damage and healing. *Dig Dis* 1994; 12: 305-317.
99. Takeda R, Nishimatsu H, Suzuki E, Satonaka H, Nagata D, Oba S, Sata M, Takahashi M, Yamamoto Y, Terauchi Y, Kadowaki T, Kangawa K, Kitamura T, Nagai R, Hirata Y. Ghrelin improves renal function in mice with ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 113-121.
100. Thaysen JH, Thorn NA, Schwartz IL. Excretion of sodium, potassium, chloride and carbon dioxide in human parotid saliva. *Am J Physiol* 1954; 178: 155-159.
101. Thesleff I, Viinikka L, Saxén L, Lehtonen E, Perheentupa. The parotid gland is the main source of human salivary epidermal growth factor. *J Life Sci* 1988; 43: 13-18.
102. Tonami H, Matoba M, Kuginuki Y, Yokota H, Higashi K, Yamamoto I, Sugai S. Clinical and imaging findings of lymphoma in patients with Sjögren syndrome. *J Comput Assist Tomogr* 2003; 27: 517-524.
103. Toshinai K, Date Y, Murakami N, Shimada M, Mondal MB, Shimbara T, Guan JL, Wang QP, Funahashi H, Samurai T, Shioda S, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin-induced food intake is mediated via the orexin pathway. *Endocrinology* 2003; 144: 1506-1512.
104. Tschöp M, Flora DB, Mayer JP, Heiman ML. Hypophysectomy prevents ghrelin-induced adiposity and increases gastric ghrelin secretion in rats *Obes Res* 2002; 10: 991-999.
105. Tsubota K, Goto E, Fujita H, Ono M, Inoue H, Saito I, Shimmura S. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjögren's syndrome. *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 390-395.
106. Walker F, Burgess AW. Epidermal growth factor receptor, w *Guidebook to cytokines and their receptors*. Nicola NA (ed.), A Sambrook & Tooze Publication at Oxford University Press, Oxford-New York-Tokyo 1997, pp 198-201.

107. Warzecha Z, Dembiński A, Ceranowicz P, Dembiński M, Cieszkowski J, Bielański W, Pawlik WW, Kuwahara A, Kato I. Dual age-dependent effect of ghrelin administration on serum level of insulin-like growth factor-1 and gastric growth in young rats. *Eur J Pharmacol* 2006; 529: 145-150.
108. Watanabe S, Dawes C. The effects of different foods and concentrations of citric acid on the flow rate of whole saliva in man. *Arch Oral Biol* 1988a; 33: 1-5.
109. Watanabe S, Dawes C. A comparison of the effects of tasting and chewing foods on the flow rate of whole saliva in man. *Arch Oral Biol* 1988b; 33: 761-764.
110. Weidner KM, Behrens J, Vandekerckhove J, Birchmeier W. Scatter factor: molecular characteristics and effect on the invasiveness of epithelial cells. *J Cell Biol* 1990; 111: 2097-2108.
111. Wong BC, Wang WP, So WH, Shin VY, Wong WM, Fung FM, Liu ES, Hiu WM, Lam SK, Cho CH. Epidermal growth factor and its receptor in chronic active gastritis and gastroduodenal ulcer before and after *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1459-1465.
112. Wren AM, Small CJ, Abbott CR, Dhillon WS, Seal LJ, Cohen MA, Batterham RL, Taheri S, Stanley SA, Ghatei MA, Bloom SR. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes* 2001a; 50: 2540-2547.
113. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, Dhillon WS, Ghatei MA, Bloom SR. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001b; 86: 5992-5995.
114. Wu R, Dong W, Zhou M, Zhang F, Marini CP, Ravikumar TS, Wang P. Ghrelin attenuates sepsis-induced acute lung injury and mortality in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 805-813.
115. Xu T, Levitz SM, Diamond RD, Oppenheim FG. Anticandidal activity of major human salivary histatins. *Infect Immun* 1991; 59: 2549-2554.
116. Zapf J, Froesch ER. Insulin-like growth factors/somatomedins: structure, secretion, biological actions and physiological role *Horm Res* 1986; 24: 121-130.