УДК 616.342-002.41-092:615.24

О ХАРАКТЕРЕ ВЛИЯНИЯ ДАЛАРГИНА НА СЕКРЕТОРНЫЕ ЭПИТЕЛИОЦИТЫ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

Могильная В.Л.

Российский центр функциональной хирургической гастроэнтерологии, Краснодар

Подробная информация об авторах размещена на сайте «Учёные России» - http://www.famous-scientists.ru

Статья посвящена сравнительному изучению влияния даларгина на секреторные эпителиоциты слизистой оболочки ДПК при наличии дуоденальной язвы.

Известно, что опиоидные пептиды имеют отношение к регуляции функций пищеварительной системы [1,2]. Исследованиями, проведенными ранее, показано, что нейропептиды участвуют в морфофункциональной перестройке органов желудочно-кишечного тракта, а также в реализации цитопротекторного эффекта в отношении слизистой желудка и кишечника

[3,5]. Среди значительного числа нейропептидов наиболее подробно в эксперименте изучены даларгин и мет-энкефалин [1,2,3,4]. Полученные результаты позволили установить участие упомянутых опиоидов в контроле темпа синтеза и секреции слизистого компонента желудочного и дуоденального содержимого для неизмененной слизистой [4].

Настоящее исследование посвящено сравнительному изучению влияния даларгина на секреторные эпителиоциты слизистой оболочки ДПК при наличии дуоденальной язвы.

Материал и методы

Обьектом исследования послужила слизистая оболочка двенадцатиперстной кишки крыс-самцов линии Вистар. Животные были разделены на три экспериментальные группы. Первая – контрольная группа, вторая – это животные, которым вводили даларгин парентерально каждые 12 часов в дозе 24 мкг/кг массы тела. Животных этой группы забивали на 1-ые, 2-ые, 4-ые и 7-ые сутки. Третья группа – это крысы с экспериментально воспроизведенной язвой ДПК, для чего использовали цистеамингидрохлорид по модифицированному методу Сабо [9]. На фоне развившейся язвы животным подкожно вводили даларгин (так же каждые 12 часов). Животных забивали на 1-ые, 2-ые и 3-тьи сутки. Кусочки слизистой оболочки ДПК фиксировали в 10% формалине, заливали в парафин по обычной методике. Для выявления муцинов использовали комплекс гистохимических методов, включающий аналитические и ферментативные обработки [8]. Выявленные вещества типировали по схеме, предложенной М.Г.Шубич и Г.М.Могильной [7]. Трефоиловые пептиды выявляли после окисления срезов перманганатом с последующим обнаружением дисульфидных групп цистина окраской основным коричневым при pH 1,0 [6].

Результаты и их обсуждение

Гистохимическое изучение слизистой оболочки ДПК контрольных животных показало, что при окрашивании по методу ШИК интенсивную реакцию обнаруживают секрет каемчатых энтероцитов и бокаловидных гландулоцитов (БГ). При этом интенсивность окрашивания БГ определяется количеством содержащегося в них секрета. Так для клеток с умереннем уровнем его содержания характерно наличие вакуолизированного секрета с окраской оболочек вакуолей и их содержимого. С падением степени интенсивности окрашивания реакцию сохраняют только оболочки вакуолей. БГ с высоким содержанием секрета обычно окрашиваются диффузно и интенсивно. Отношение ШИК-реакции к диастазе, мягкому кислотному гидролизу и фенилгидразину позволяет считать, что в

состав секрета входят нейтральные муцины, уровень содержания которых нашел отражение в показателе среднего цитохимического коэффициента (СЦК). При этом БГ ворсинок у животных контрольной группы имеют СЦК , равный 2,3±0,08 , а БГ крипт – 2,19±0,07. ШИК-реактивность БГ была использована нами и для количественной характеристике их числа в составе ворсинок и крипт.

При выявлении кислых муцинов в окраске альциановым синим при pH 2,7 оказалось, что секрет БГ и каемка кишечных энтероцитов окрашиваются умеренно, а местами – слабо. Средний цитохимический коэффициент для альцианофильных БГ ворсинок оказался равным 1,19±0,02, а для БГ крипт – 1,2±0,02. Кислые муцины с ионизированными сульфатными группами в окраске альциановым синим pH 1,0 выявлялись лишь в секрете БГ крипт, уровень содержания их от низкого (СЦК 0,71±0,11) до следов. При избирательном выявлении трефоиловых пептидов установлено, что положительную реакцию обнаруживает секрет БГ ворсинок и крипт, интенсивность реакции у некоторых животных от слабой до умеренной, а у других от умеренной до интенсивной, распределение продукта реакции диффузное.

При изучении влияния даларгина на неизменную слизистую оболочку ДПК оказалось, что содержание нейтральных муцинов в секрете бокаловидных гландулоцитов ворсинок практически не меняется и средний цитохимический коэффициент в окраске по методу ШИК для этих клеток составляет 2,33±0,08, соответствуя уровню контроля . БГ крипт в ответ на введение даларгина в течении 1-х суток реагируют снижением уровня содержания нейтральных муцинов, что находит отражение в уменьшении их СЦК. Так, в контроле СЦК этих клеток составляет 2,19±0,07, после введения даларгина – 1,85±0,1 ($p < 0,01$). На 2-е сут введения даларгина содержание нейтральных муцинов в БГ ворсинок и крипт увеличивается. Однако наиболее выраженное увеличение темпа синтеза этих веществ приходится на 4-ые сут введения даларгина. В эти сроки в интактной слизистой оболочке активируется деятельность БГ с возрастанием их СЦК, 2,52±0,04 – для БГ ворсинок, и 2,69±0,05 – для БГ крипт. Изменение СЦК приводит к перераспределению типов БГ, и, следовательно, к изменению обьема секретируемой слизи. Кислые муцины в 1-ые и 2-ые сут введения даларгина исчезают из состава секрета БГ и появляются в них лишь на 4-ые сут, к этому сроку число альцианофильных БГ возрастает в 1,5 раза. К 7-м суткам эксперимента и число БГ и уровень содержания в них кислых муцинов – снижаются.

Влияние даларгина на пролиферативный статус слизистой находит отражение в числе БГ в составе ворсинок и крипт (рис.1). Оказалось, что увеличение количества БГ регистрируется на 4-ые сут введения препарата, но статистически это увеличение недостоверно. Выявленные изменения могут быть охарактеризованы как тенденция к увеличению числа БГ , ибо статистически достоверное ($p< 0,001$) увеличение оказалось характерно лишь для БГ крипт. При изучении распределения трефоиловых пептидов отмечается некоторое снижение уровня их содержания, наиболее заметное к 4-ым сут введения даларгина.

На фоне развившейся экспериментальной язвы эффект даларгина может быть оценен в двух аспектах: во-первых, с позиции сформированного язвенного фона, который развивается к концу первых суток введения цистеамина, а во-вторых – это изменения, разыгрывающиеся при введении даларгина при неизмененной СО ДПК. В первом случае оказалось, что введение цистеамина индуцирует увеличение темпа синтеза нейтральных и кислых муцинов БГ ворсинок и крипт. При этом БГ увеличивают показатель СЦК. Так, если в контроле он составлял 2,3±0,08 усл.ед., то к концу первых суток эксперимента с цистеамином СЦК оказался равным 3,65 ± 0,09 статистически достоверно ($p < 0,001$) превышая исходный уровень.

Аналогичное повышение темпа синтеза нейтральных муцинов имело место и в БГ крипт. Кислые муцины, выявляемые в окраске альциановым синим при pH 2,7 в течение первых суток формирования экс-

периментальной язвы так же увеличивали темп синтеза. Введение даларгина на фоне язвы ДПК в течении первых суток сохраняет высокий темп синтеза муцина в БГ и ворсинок, и крипт и этот темп синтеза сохраняется до конца 3-тьих суток эксперимента, эта динамика находит отражение в увеличении показателя СЦК и в показателях общей муцинпродуцирующей активности секреторных эпителиоцитов. Увеличивается и синтез кислых муцинов. Так, БГ ворсинок контрольных животных после окраски альциановым синим pH 2,7 имели СЦК равный 1,19 ± 0,02, а после введения даларгина их СЦК возрастает ($p < 0,001$) и остается повышенным до конца 3-х суток. Муцинпродуцирующая активность БГ на фоне введения даларгина возрастает почти в 2 раза. Исходный уровень МПА, равный 60,56±4,01 к 3-м суткам составляет для ворсинок 110,2 ±0,75, а для БГ крипт 53,1±0,67 (при 48,18±2,02 в контроле). Участие даларгина в регуляции пролиферативной активности БГ при наличии экспериментальной язвы ДПК выявляется на фоне контроля для цистеамина. Так, к концу 1-х сут введения цистеамина число БГ в составе ворсинки соответствует 15,8±2,01 , а в зоне крипты - 17,3±1,8. Введение даларгина приводит к увеличению числа БГ ворсинок и к концу первых суток их становится 21,22±3,97. В то же время в зоне крипт их количество соответствует исходному, а при введении даларгина в течение 1-3 суток даже несколько снижается. При введении даларгина животным контрольной группы оказалось, что существенные сдвиги в уровне распределения нейтральных муцинов в интактной слизистой регистрируются у них лишь на 4-е сут эксперимента, когда происходит увеличение СЦК ворсинок и на этом фоне – увеличение общей муцинпродуцирующей активности, к этому сроку увеличивается темп синтеза нейтральных муцинов и в бокаловидных гландулоцитах зоны крипт.

Интересно отметить характерное для этой группы животных увеличение на фоне введения даларгина общего числа БГ, содержащих кислые муцины. Так до введения даларгина у животных контрольной группы число БГ, содержащих кислые муцины, в среднем составило 19,1±0,68. При этом увеличение темпа синтеза этих веществ для БГ ворсинок приурочено к 4-ым и 7-ым суткам, а для БГ крипт -к 4-ым сут эксперимента. Изучение уровня содержания трефоиловых пептидов в зоне ДПК на фоне экспериментальной язвы с последующим введением даларгина показало, что спустя 24 часа после введения цистеамина каемка кишечных энтероцитов и секрет БГ ворсинок и крипт окрашиваются умеренно или интенсивно. Введение даларгина в эти же сроки приводит к падению содержания в секреторных эпителиоцитах ДПК трефоиловых пептидов. Пролонгирование срока введения даларгина до 2-х и 3-ех суток сопровождается восстановлением уровня содержания трефоиловых пептидов к исходному.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют , что опиоидные пептиды являются регуляторами эпителиального гомеостаза желудочно-кишечного тракта. При этом влияние даларгина на неизмененную слизистую оболочку ДПК прослеживается в увеличении числа БГ в эпителиальной выстилке ворсинок и крипт, а так же в сдвигах темпа синтеза муцинов, продуцируемых БГ. Причем во временном аспекте эти изменения различны. Так, продукция нейтральных муцинов увеличивается к 4-м сут введения даларгина и удерживается до 7-х сут, а кислых – к 4-м сут, но снижается к 7-м. В то же время введение даларгина на фоне экспериментальной язвы ДПК приводит к выраженной фазной динамике, которая инициируется изменением исходного темпа синтеза муцинов БГ ворсинок и крипт на фоне введения цистеамина. Так оказалось, что к моменту формирования язвы ДПК на фоне снижения числа БГ происходит активация темпа синтеза этими клетками муцинов и трефоиловых пептидов и этот высокий темп удерживается за счет введения нейропептида в основном БГ ворсинок при всех последующих сроках эксперимента. На фоне сформированной язвы ДПК введение даларгина влияет на механизм регуляции и темпа синтеза муцинов, и темпа пролиферации. При этом выявленное увеличение числа секреторных БГ в составе эпителиальной выстилки ворсинок находит отра-

жение в нарастании и муцинпродуцирующей активности (МПА), ибо на фоне экспериментальной язвы ДПК без даларгина она составила для БГ ворсинок 57,7±0,95 усл.ед., увеличиваясь почти в 2 раза к 3-м сут введения даларгина. В то же время БГ крипт на фоне экспериментальной язвы не реагируют на даларгин в течение первых 3-х суток его введения. Таким образом, полученные данные позволяют считать, что даларгин играет важную роль в регуляции темпа синтеза слизистого компонента дуоденального секрета и, следовательно, в реализации эпителиоцитами ДПК эффекта цитопротекции слизистой

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Виноградов В.А., Полонский В.М. Даларгин – наиболее активный синтетический аналог эндогенных опиоидов для лечения язвенной болезни // Бюллетень Всесоюзн. корд. науч. центра. – 1986. - № 2. – С. 62-63.

2. Зверков И.В., Арндт И.П., Щербаков Н.В., Смагин В.Г. Гастроинтестинальные эндокринные клетки при лечении больных дуоденальной язвой новым пептидным препаратом даларгином// Бюллетень Всесоюзн. корд. научн. центра. – 1986. - № 2. – С. 72-74.

3. Лукаш Н.В., Полищук Т.Ф. Влияние тималина, даларгина и «мукозалина» на течение экспериментальной язвы двенадцатиперстной кишки // Врачебн.дело. – 1995. - № 1-2. – С. 53-54.

4. Могильная Г.М., Коротько Г.Ф., Курзанов А.Н. Динамика цитохимических свойств защитного барьера желудка при введении даларгина // Морфология. – 1996. - № 3. – С. 72-75.

5. Смагин В.Г.. Виноградов В.А., Булгаков С.А., Полонский В.М. и др. Клиническая оценка гексапептида даларгина как средства лечения язвенной болезни двенадцатиперстной кишки // Тер.архив . – 1984. – v.11. – С. 49-52.

6. Шубич М.Г. Методика гистохимического выявления белков, богатых цистином // В кн.: Доклады научной сессии Куб.мед.института. – Краснодар. – 1963. – С. 94-95.

7. Шубич М.Г., Могильная Г.М. Значение ШИК-метода в гистохимическом анализе углеводных и углеводсодержащих биополимеров // Архив анат., гистол. и эмбриол. – 1982. - № 5. – С. 90-93.

8. Pearse A. Histochemistry.Theoretical and applied.- London. - 1968.- v. 1 .- 213 p.

9. Szabo S. Am. J. Path. – 1978. – v. 93. – p. 273- 276.

ON DUODENUM SECRETORY EPITHELIAL CELLS' DALARGIN INFLUENCE CHARACTER

Mogil'naya V.L.

Russian Center of Functional Surgical Gastroenterology, Krasnodar

The article is dedicated to comparative study of delergin influence on DPC mucous coat secretory epitheliocytes with the duodenal ulcer available.