

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ В СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ТОВСТОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ВВЕДЕННІ АГОНІСТА PPAR γ ПІОГЛІТАЗОНУ НА ТЛІ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ

О.Б. Воробиня, Т.В. Берегова, М.В. Держаківський
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, у.Київ

Робота виконана відповідно до наукової теми біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка «Дослідження механізмів функціонування органів травного тракту та розробка методів їх корекції», № держреєстрації 0106и005755.

Досліджували ультраструктурні зміни в слизовій оболонці товстого кишечника щурів при експериментальній гіпергастринемії та при дії агоніста PPAR γ піоглітазона. Показано, що гіпергастринемія спричиняє появу атипичних епітеліоцитів у слизовій, а дія піоглітазону полягає в ініціації їх диференціювання.

Ключові слова: гіпергастринемія, слизова оболонка товстого кишечника.

Низька кислотність шлункового соку та ахілія належать до факторів ризику щодо розвитку раку шлунково-кишкового тракту. Тривале зниження кислотності призводить до підвищеної секреції гастрину G-клітинами шлунку, тоді як гіпергастринемія відома своєю трофічною дією на слизову оболонку шлунка та кишечника, а особливо, – на ендокринні клітини [1, 3, 4].

Можна припустити, що для профілактики розвитку гіперплазії та карциноїдів шлунку може бути корисна розробка методів фармакологічної блокади проліферативної дії гастрину. Перспективним у цьому відношенні здається піоглітазон – агоніст рецепторів, що активують проліферацію пероксисом (PPAR γ), які відіграють важливу роль у регуляції клітинної диференціації шляхом впливу на інтенсивність транскрипції генів. Зокрема, вважають, що PPAR γ причетні до пригнічення проліферації та стимуляції диференціації та апоптотичної активності різних типів клітин [5, 7, 8], що обумовлює протипухлинні ефекти PPAR γ .

Метою роботи було дослідження ультраструктурних змін в слизовій оболонці товстого кишечника при експериментальній гіпергастринемії та при дії агоніста PPAR γ піоглітазону.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проводили на самцях щурів п'ятимісячного віку, які були розділені на три експериментальні групи. Перша група (контрольна): щури, які одержували ін'єкції 0,25 мл ізотонічного розчину NaCl протягом 28 діб. Друга група тварин протягом 28 діб отримувала ін'єкції омепразолу у дозі 14 мг/кг. Омепразол є інгібітором H⁺-K⁺-АТФази, ключового ферменту апікальної мембрани паріетальних клітин шлунку, який бере участь у секреції соляної кислоти [4]. Внаслідок дії омепразолу виникає гіпосекреція соляної кислоти, яка веде до гіперсекреції гастрину G-клітинами антрального відділу шлунку. Третя група тварин одночасно з омепразолом протягом 28 діб отримувала ін'єкції піоглітазону в дозі 10 мкг/кг. Безпосередньо після розтину щурів частину слизової оболонки проксимального відділу товстого кишечника фіксували у 2,5% розчині глютарового альдегіду на какодилатному буфері протягом 2 год. Потім за традиційною гістологічною методикою тканину заливали в епоксидну смолу, виготовляли ультратонкі зрізи, контрастували у розчинах ураніл-ацетату та цитрату свинцю та аналізували за допомогою трансмісійного електронного мікроскопу при робочому збільшенні x4000-x25000.

Результати дослідження та їх обговорення. Епітелій слизової оболонки товстої кишки **контрольної групи** щурів представлений одношаровим призматичним, який складається з трьох типів клітин: стовбчастих епітеліоцитів з тонкою облямівкою, келихоподібних екзокриноцитів та ендокриноцитів. Зустрічаються недиференційовані епітеліоцити, в яких часто помітні мітози.

Стовбчасті епітеліоцити розміщуються на поверхні слизової оболонки та в криптах. Вони мають виражену полярність, на апікальній поверхні є мікрворсинки. В базальній частині клітини знаходяться овальне ядро та синтетичний апарат. Апарат Гольджі розміщений над ядром і його цистерни розташовані вертикально до поверхні клітини. Келихоподібні екзокриноцити у великій кількості знаходяться у криптах. Під час накопичення секрету ядра та органели цих клітин притискуються до основи, а в цитоплазмі спостерігаються краплини слизу. Після виділення секрету клітини стають вузькими, а ядра зменшуються.

Ендокриноцити мають пірамідальну форму з вузькою верхівкою. Вони представлені ECL-, EC-, D-, D₁- та L-клітинами, які розрізняються будовою гранул.

ЕСL-клітини (ентерохромафіно-подібні) – найпоширеніший тип ендокринних клітин товстого кишечника. Вони синтезують гістамін і містять секреторні пухирці, з невеликим щільним ексцентричним гало.

Наступний за поширеністю тип – L-клітини. Вони містять округлі гранули з матриксом високої електронної щільності, який відділений від мембрани тонким світлим проміжком. D-клітини містять округлі чи овальні секреторні гранули з матриксом низької чи помірної електронної щільності. Також інколи зустрічаються «змішані» клітини – екзо-ендокринні та ендо-ендокринні. В перших у цитоплазмі спостерігаються слизовий та ендокринний компонент, у других – два ендокринних. Найчастіше зустрічаються клітини, які містять L та D гранули, а також D₁ та слизові гранули. Змішані клітини не є самостійним типом клітин, і в процесі розвитку один з двох видів секрету переважає [3]. У власній пластинці слизової оболонки часто зустрічаються поодинокі лімфоїдні вузлики.

В слизовій оболонці товстої кишки шурів, які отримували *омепразол* протягом 28 діб, серед стовпчастих епітеліоцитів ворсинок переважають електронно-щільні клітини, пласт яких втрачає щільні котнакти та містить ділянки розходжень різного простору. Хоча в апікальній частині стовпчастих епітеліоцитів розташована значна кількість мікрофіламентів, які приймають участь у формуванні замикаючих пластинок та щільних контактів, вони дезінтегровані, внаслідок чого у клітини легко можуть проникати мікроорганізми, такі як *Helicobacter pylori* та *Esherichia coli*, а щільні контакти розходяться. Як і в усіх електронно-щільних клітин, темні епітеліоцити містять зменшене число органелл. Те саме стосується келихоподібних клітин, кількість яких зменшена, а ті, що спостерігаються, знаходяться на різних стадіях апоптозу. Ділянки епітеліальних клітин, які ще функціонально активні, чергуються з ділянками клітин на заключних стадіях апоптозу аж до апоптозних тіл, які злушуються у просвіт кишки. В криптах стовпчаті епітеліоцити електронно-прозорі, кількість органелл суттєво знижена. Також значно менша у криптах кількість клітин на заключних стадіях апоптозу.

Разом з тим, звертає на себе увагу наявність в криптах окремих клітин, в цитоплазмі яких, поряд з добре розвинутими органеллами (комплексом Гольджі, ендоплазматичною сіткою, мітохондріями), спостерігаються структури, подібні до пучків філаментів епітеліоцитів шлунку. Особливістю ультраструктури власної пластинки товстої кишки експериментальних тварин є те, що в ній загибель клітин відбувається як апоптозним шляхом, так й шляхом некрозу, про що свідчить наявність в ній, з одного боку, клітинного детриту, а з іншого – макрофагів та плазматичних клітин.

У епітеліальній пластинці слизової оболонки товстої кишки при сумісному введенні *омепрозолу* та *ніоглітазону* виявляються практично всі типи клітин характерні для неї у контрольних тварин. При цьому слід зазначити, що при такій комбінованій дії у клітинах поверхневого епітелію збережена структурна організація всіх органелл та міжклітинних контактів, тільки частково у деяких клітинах виявляються зони десквамації мікрворсинок. Самі ж стовпчасті епітеліоцити суттєво не відрізняються від норми. У них добре збережені всі органели та міжклітинні контакти. Разом з тим, у цих клітинах активізується аутолітична функція, про що свідчить наявність великої кількості лізосом та залишкових тілець у епітеліальних клітинах, а також у макрофагах. Внутрішньо-епідермально, окрім лимфоцитів, виявляються глобулярні лейкоцити, гістамін-вмісні гранули яких аналогічні таким у тканинних базофілів. Такі клітини виявляються збережені або ж повністю дегранульовані. У просвіті кишки можна спостерігати залишки десквамованих виростів цих клітин, які оточені мікроорганізмами *E.coli* та *H.pilory*. Келихоподібні клітини також аналогічні контрольним тваринам. Привертає увагу велика кількість представників ендокринної системи, переважно ЕС- та ESL- клітин. Серед цих клітин спостерігаються малодиференційовані клітини, у цитоплазмі яких містяться незначна кількість органелл та поодинокі гранули. Для ESL-клітин характерні більші за розміром гранули, переважна більшість яких мають ободок, а вміст їх ущільнюється і оточений електронно прозорою зоною. У ЕС-клітинах переважають електроннощільні дрібні гранули. Кровеносні капіляри фенестрованого типу практично не відрізняються від контрольних тварин. В інтерстиції знаходяться імунокомпетентні клітини, такі як лімфоцити, макрофаги, плазмоцити. Останні спостерігаються в активному стані, про що свідчать розширені каналці ендоплазматичної сітки, які містять гамаглобуліни.

В слизовій оболонці товстої кишки тварин, які отримували ін'єкції *омепрозолу*, помітні зміни, не характерні клітинам в нормі. Виявлені ознаки клітинного атипізму, які полягали в наявності великих ядер з гіпертрофованими ядерцями, відокремленні міжклітинних контактів, великої кількості мітозів. Значна частина клітин містить невиразні ознаки спеціалізації. В стовпчастих клітинах різко зменшені кількість мікрворсинок, в цитоплазмі келихоподібних клітин значно зменшується вміст

слизових гранул, які розміщені по всій цитоплазмі, редуковані гранулярна ендоплазматична сітка та комплекс Гольджі. Часто зустрічаються клітини з ущільненою цитоплазмою, пікноморфним ядром, що втрачають контакти з оточуючими клітинами. Така будова характерна для апоптичної загибелі епітеліоцитів. Тобто на фоні гальмування диференціювання епітеліоцитів в прямій кишці після впливу омепразолу, відбувається активація їх проліферації та виникнення атипії. Очевидно, гастрин, що синтезується шлунком в надлишкових кількостях у дослідної групи тварин, з током крові досягає епітеліальної вистілки прямої кишки, де взаємодіє з ССК-рецепторами на поверхні її епітеліальних клітин [3, 4]. В результаті чого активуються процеси транскрипції генів, які відповідають за проліферацію клітин та гальмування генів, що забезпечують їх диференціювання.

Використання *піоглітазону* разом з *омепразолом* сприяло відновленню диференційних ознак в клітинах епітеліального шару товстої кишки. Серед клітин переважали стовпчасті та келихоподібні клітини. Стовпчасті клітини на поверхні були густо вкриті мікроворсинками, містили достатню кількість мітохондрій, формували численні контакти з сусідніми клітинами. Келихоподібні клітини містили велику кількість слизових гранул, переважно в апікальній поверхні. Часто зустрічались епітеліальні клітини на різних стадіях диференціювання. Поряд з цим, не виявлено мітозів та істотного збільшення недиференційованих клітин. У даної групи тварин не були виявлені ознаки клітинного атипізму, характерні для другої групи піддослідних тварин. Тобто на фоні активації процесів диференціювання в епітеліоцитах слизової оболонки прямої кишки, відмічається гальмування їх проліферації.

Піоглітазон є агоністом ядерних рецепторів, що активують проліферацію пероксисом (PPAR), які індукують диференціацію клітин шляхом активації транскрипційних процесів, пригнічуючи при цьому проліферацію цих клітин. Механізм дії піоглітазону пояснює наявність диференційованих клітин слизової оболонки шлунка, в яких залишаються ознаки клітинного атипізму. Тобто активація транскрипції в епітеліоцитах шлунка під впливом піоглітазону носить неспецифічний характер та не протидіє транскрипції проонкогенів, яка активується шляхом взаємодії гастрину з ССК- рецепторами [2,6,7,8,9].

Висновки

1. Гіпергастринемія у щурів, спричинена введенням блокатора H^+-K^+ -АТФази омепразолу, призводить до розвитку клітинного атипізму слизової оболонки товстого кишечника.
2. Ультраструктура слизової оболонки товстої кишки свідчить, що одночасне з омепрозолом введення піоглітазону в значній мірі упереджує розвиток канцерогенезу, про що свідчить збереженість більшої частини структурних компонентів цих органів. Ознаки сумісного впливу піоглітазону та омепрозолу свідчать про індукцію диференціювання клітин шляхом неспецифічної активації транскрипційних процесів, гальмуючи при цьому проліферацію цих клітин.
3. Протективна дія піоглітазону на епітеліальний шар слизової оболонки товстої кишки свідчить про можливість використання цього препарату як засобу профілактики його малігнізації при гіпергастринемії в клінічній практиці.

Перспективи подальших розробок у даному напрямку полягає у клінічних дослідженнях терапевтичних ефектів піоглітазону при зниженій кислотності шлункового соку.

Література

1. Берегова Т.В. Вплив мультипробіотика «Симбітер» на морфо-функціональні зміни в товстому кишечнику, викликані довготривалим введенням омепразолу /Т.В. Берегова, Т.М. Гурленко, О.І. Радчук, О.І. Цирюк, В.К. Рибальченко // Збірник праць науково-практичної конференції «Нові перспективи застосування мультипробіотика «Симбітер» в гастроентерології та онкології». – Київ, 2008. - С. 64-73.
2. Escher P. Peroxisome proliferator-activated receptors: insight into multiple cellular functions / P. Escher, W. Wahli // Mutat.Res.-2000.-Vol.448, № 2.-P.121-138.
3. Georgopoulos S. Hypergastrinemia Is Associated with Increased Risk of Distal Colon Adenomas / S. Georgopoulos, D. Polymeros. // Digestion.-.2006. - № 74. - P.42-46.
4. Halter F. Effect of Acid Inhibition on the Growth of Parietal Cells / F. Halter, W. Inauen, F. Eigenmann, L. Varga // Scandinavian Journal of Gastroenterology. – 1986, Vol. 21, N. 125, P. 9-13.
5. Inoue H. Endogenous ligands for PPARs / H. Inoue // Nippon Rinsho.-2005.-Vol.63, № 4.-P.578-583.
6. Kostadinova R. PPARs in diseases: control mechanisms of inflammation / R. Kostadinova, W. Wahli, L. Michalik // Curr.Med.Chem.-2005.-Vol.12, № 25.-P.2995-3009.
7. Michalik L. Involvement of PPAR nuclear receptors in tissue injury and wound repair / W. Wahli, L. Michalik // J.Clin.Invest.-2006.-Vol.116, № 3.-P.598-606.

8. Polikandriotis J.A., Mazzella L.J., Rupnow H.L. [et al.] Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands stimulate endothelial nitric oxide production through distinct peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent mechanisms / J.A. Polikandriotis, L.J. Mazzella, H.L. Rupnow [et al.] // *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* - 2005.-Vol.25, № 9.-P.1810-1816.
9. Sokolowska M. Peroxisome proliferator-activated receptors-gamma (PPAR-gamma) and their role in immunoregulation and inflammation control / M. Sokolowska, M.L. Kowalski, R. Pawliczak // *Postepy Hig.Med.Dosw.(Online.)*.-2005.-Vol.59,-P.472-484.

Реферати

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ВВЕДЕНИИ АГОНИСТА PPAR γ ПИОГЛИТАЗОНА НА ФОНЕ ГИПЕРГАСТРИНЕМИИ

Воронина Е.К., Береговая Т.В., Держинский Н.Э.

Исследовали ультраструктурные изменения в слизистой оболочке толстого кишечника крыс при действии агониста PPAR γ пиоглитазона. Показано, что гипергастринемия вызывает появление атипичных эпителиоцитов в слизистой, а действие пиоглитазона состоит в инициации их дифференциации.

Ключевые слова: гипергастринемия, слизистая оболочка толстого кишечника.

Стаття надійшла 12.04.10

PPAR γ AGONIST PIOGLITAZONE INDUCED ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN RAT COLON MUCOSA DURING HYPERGASTRINAEMIA

Voronina O.K., Beregova T.V., Dzerzhinsky M.E.

Ultrastructural changes in rat colon mucosa were studied during experimental hypergastrinaemia and following the administration of PPAR γ agonist pioglitazone. Hypergastrinaemia was shown to cause the appearance of atypical epithelial cells, while pioglitazone seemed to stimulate epithelial differentiation in the mucosa.

Key words: hypergastrinaemia, colon mucosa.

УДК 616.72-007.24:616.36/.366-08]:577.1

ЗМІНИ ІНТЕНСИВНОСТІ ПЛАЗМОВОГО ФІБРИНОЛІЗУ ТА ПРОТЕОЛІЗУ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ПРИ ГАСТРОДУОДЕНОПАТІЯХ, ІНДУКОВАНИХ НЕСТЕРОЇДНИМИ ПРОТИЗАПАЛЬНИМИ ПРЕПАРАТАМИ, У ХВОРИХ НА ОСТЕОАРТРОЗ

Л.М. Гончарук, О.М. Фелікс
Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Дана стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри внутрішньої медицини та ендокринології на тему: «Шляхи оптимізації діагностики та лікування патології органів травлення, поєднаної із захворюваннями інших внутрішніх органів» шифр теми за зведеним планом НДР Ін. 25.01.0001.07).

У хворих на остеоартроз із супутніми гастродуоденопатіями, індукованими нестероїдними протизапальними препаратами, встановлено підсилення інтенсивності протеолітичної та фібринолітичної активності плазми крові. Відмічено позитивний вплив на стан системи плазмового фібринолізу та протеолізу комплексного лікування гастродуоденопатій, індукованих нестероїдними протизапальними препаратами, із включенням ребаміпіду та амлодипіну.

Ключові слова: остеоартроз, нестероїдні гастропатії, фібриноліз, протеоліз, корекція лікування.

В Україні за останні 10 років нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) займають 5-те місце в структурі всіх зареєстрованих побічних реакцій. При цьому ускладнення зі сторони травного каналу (ТК) складають вище 30% всіх побічних реакцій при прийомі даних препаратів [1]. Щорічно в США об'єм продажу НПЗП складає близько 6 млрд доларів, а близько 15 тис. хворих помирають від ускладнень, що розвиваються внаслідок їх використання [5]. Згідно з результатами аналізу, проведеного FDA, щорічно ураження ТК, обумовлені прийомом НПЗП, є причиною 100-200 тис. госпіталізацій і 10-20 тис. летальних випадків [6]. Близько 50% хворих, що приймають НПЗП, скаржаться на порушення зі сторони ТК, однак наявність цих симптомів не являються достовірною ознакою пошкодження слизової оболонки. Безсимптомні виразки були виявлені при ендоскопічному обстеженні майже у 40% пацієнтів, що тривало приймають НПЗП [14]. Ульцерогенна дія НПЗП проявляється в 20-40% випадків перфорацією виразок антропілородуоденальної локалізації та в 20-35% випадків гострими шлунково-кишковими кровотечами [8]. В механізмі ульцерогенної дії НПЗП