

Фізіологія людини і тварин

УДК 616.345:616.746-099-085:577.112.34-091.8-092.9

ВПЛИВ ОЛІГОПЕПТИДНИХ ПРЕПАРАТІВ НА СТРУКТУРНУ ПЕРЕБУДОВУ ГЛАДКОЇ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ ТОВСТОЇ КИШКИ В РАЗІ СВИНЦЕВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ**М. Гнатюк, Л. Рибіцька***

**Тернопільська державна медична академія імені І.Я. Горбачевського
майдан Волі, 1, м. Тернопіль, Україна, 46001
e-mail: academy@tdma.edu.te.ua*

Виявлено, що хронічна свинцева інтоксикація супроводжується важким ураженням товстої кишки, яке виявляється альтеративними, інфільтративними, атрофічними процесами та судинними розладами. Використання олігопептидних препаратів у разі змодельованої патології суттєво поліпшує структуру гладкої м'язової тканини пошкодженої товстої кишки.

Ключові слова: уражена товста кишка, свинцева інтоксикація, морфометрія, ізольовані гладкі міоцити, олігопептидні препарати.

Однією з актуальних проблем сучасної гастроентерології є неухильне зростання хронічних запальних захворювань кишківника. За спостереженнями клініцистів, хронічними колітами страждають переважно люди працездатного віку. Більшість дослідників пов'язують це явище із нерегулярним харчуванням, неконтрольованим уживанням ліків, зниженням резистентності населення, збільшенням кількості шкідливих хімічних чинників та їхніх метаболітів у довкіллі [5, 7, 10, 12, 17].

Успіхи сучасної медичної науки, промислової гігієни та дотримання правил техніки безпеки значно знизили рівень професійних захворювань. Однак, незважаючи на низку інженерно-технічних та медичних профілактичних заходів, сучасні дослідники зазначають, що хронічні свинцеві отруєння нерідко трапляються і сьогодні [8, 9, 18]. Широке застосування свинцю в промисловості, зростання його видобування призводять до засмічення не тільки виробничої сфери, а й повітря, водойм та продуктів харчування цим важким металом та його метаболітами. У разі дії свинцю на організм, передусім, страждає шлунково-кишковий тракт, у тому числі товста кишка [4, 10, 13].

Високий рівень захворюваності, тривалий термін непрацездатності, часті рецидиви, значний відсоток росту новоутворень товстої кишки, зростання внаслідок них смертності і не завжди задовільні результати лікування потребують пошуку та розробки нових препаратів для лікування хронічних колітів [7, 12, 17].

Останнім часом у корекції органів травної системи різного походження особливе місце посідають біологічно активні харчові домішки (БАД), зокрема, олігопептидні препарати. За даними багатьох дослідників, вони дають змогу домогтись багатофакторної дії на організм [11, 14, 15, 16, 19, 20]. У відомій літературі недостатньо висвітлений вплив олігопептидних препаратів на структурну перебудову м'язової тканини товстої кишки в разі її токсичних уражень.

Ми мали на меті з'ясувати закономірності структурних змін товстої кишки в разі токсичної дії на організм ацетату свинцю та визначити ефективність корекції патологічних процесів за допомогою низькомолекулярних β -казеїнових пептидних препаратів.

За допомогою морфологічних методів досліджено товсту кишку 45 білих щурів-самців масою 190–210 г, яких розділили на три групи. Перша група – 15 тварин, які перебували у звичайних умовах віварію і яким внутрішньошлунково вводили фізіологічний розчин, друга – 17 білих щурів з експериментальним токсичним колітом, третя – 13 тварин із змодельованою патологією, яку коригували олігопептидними препаратами. Коліт моделювали шляхом щоденного внутрішньошлункового введення тваринам ацетату свинцю в добовій дозі 0,3 г/кг маси тіла з додатковим внутрішньочеревинним уведенням 1% розчину мезатону у дозі 0,05 мг/г. Мезатон вводили у нижні відділи черевної порожнини через день упродовж першого тижня, а свинцю ацетат – упродовж трьох тижнів від початку експерименту. Олігопептидні препарати вводили експериментальним тваринам внутрішньошлунково в дозі 10 мг/кг протягом двох тижнів. Їхнє введення розпочинали через два тижні від початку досліду. Низькомолекулярні пептидні фракції отримували шляхом протеолізу β -казеїну, використовуючи електрофоретично та хроматографічно чисті субстрати з препаратів загального казеїну [15].

Білих щурів виводили з експерименту кровопусканням в умовах тіопентал-натрієвого наркозу. Вирізані шматочки товстої кишки фіксували в 10,0% забуференому розчині формаліну, рідинах Карнуа, Ценкера, 96° етиловому спирті й після відповідного проведення через спирти щораз більшої концентрації заливали парафіном. Мікротомні зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, за ван Гізон, Маллорі, Вейгертом. Досліджували ізольовані гладкі міоцити м'язової оболонки товстої кишки за допомогою методу лужної дисоціації міоцитів. Мікропрепарати обстежували в мікроскопах МБІ-15 та "Люам Р-8". Морфометрично на мікропрепаратах визначали товщину м'язової оболонки товстої кишки, кількісне співвідношення у субпопуляції гладких м'язових клітин, довжину, товщину та об'єм ізольованих гладких міоцитів, об'єм їхніх ядер, ядерно-цитоплазматичні співвідношення в міоцитах [1–3, 6]. Кількісні показники опрацьовували статистично. Різницю між порівнювальними значеннями визначали за критерієм Стьюдента.

Морфометричні показники товстої кишки інтактних, а також експериментальних тварин наведені в табл. 1. Аналіз отриманих даних засвідчив, що тривале ураження стінки товстої кишки ацетатом свинцю супроводжувалося альтеративними, інфільтративними процесами, а також вираженими судинними розладами. Ці явища виявлялися в слизовій оболонці, підслизовій основі та м'язовій оболонці товстої кишки.

Виявлено, що в разі експериментального коліту зростає товщина м'язової оболонки у 1,23 раза. За умов експерименту значно змінюються співвідношення між популяціями малих, середніх та великих гладких міоцитів у м'язовій оболонці товстої кишки. У цьому разі кількість малих лейоміоцитів зменшується з 25,6 до 9,7%, середніх – з 65,3 до 61,5%, а великих гладких м'язових клітин зростає з 9,1 до 28,5%, що свідчить про зни-

Таблиця 1

Представництво в популяції розмірних груп ізольованих міоцитів товстої кишки дослідних тварин, %

Міоцити	Група тварин		
	перша	друга	третя
Малі	25,6	9,7	19,8
Середні	65,3	61,5	64,7
Великі	9,1	28,5	15,5

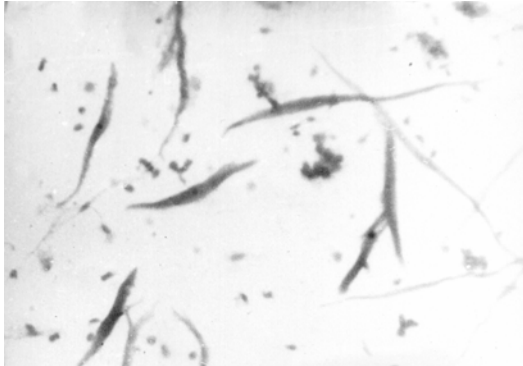


Рис. 1. Ізольовані гладкі міоцити м'язової оболонки неуразеної товстої кишки. Забарвлення азур-еозином. $\times 200$.

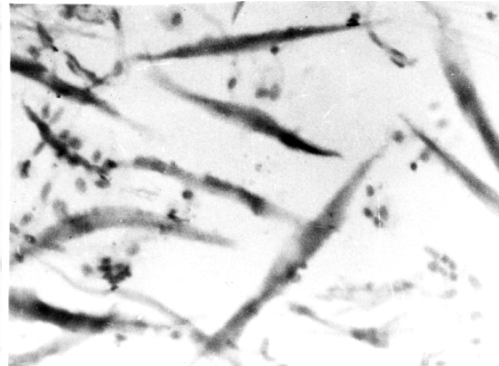


Рис. 2. Збільшення довжини та товщини ізольованих міоцитів м'язової оболонки товстої кишки в разі її токсичного ураження. Забарвлення азур-еозином. $\times 200$.

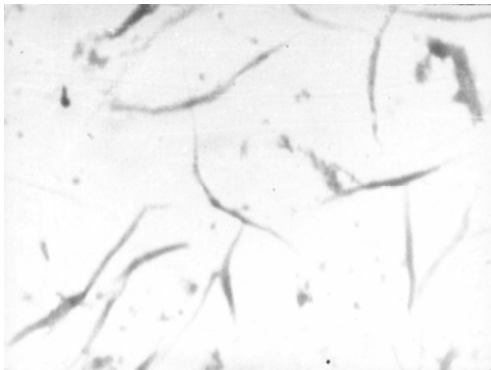


Рис. 3. Зменшення довжини та товщини ізольованих гладких міоцитів м'язової оболонки товстої кишки в разі експериментального коліту, коригованого олігопептидними препаратами. Забарвлення азур-еозином. $\times 200$.

ження адаптаційних резервів м'язової оболонки в разі свинцевої інтоксикації (рис. 1, 2).

Морфометрією ізольованих гладких міоцитів м'язової оболонки ураженої товстої кишки виявлено, що під впливом олігопептидних препаратів кількість малих міоцитів зростає до 19,8%, середніх до 64,7%, а великих клітин зменшується до 15,5% (див. табл. 1, рис. 3).

Досліджено, що в умовах корекції відбуваються зміни між об'ємними характеристиками в усій популяції гладких м'язових клітин. Наприклад, об'єм малих міоцитів зменшується з $2010,9 \pm 50,6$ до $1968,3 \pm 32,7$ μm^3 , тобто нижчий майже на 2,8% порівняно з аналогічним показником другої групи тварин. Цей параметр статистично достовір-

но не відрізняється від аналогічного контрольного (табл. 2). Об'єм ядер малих лейоміоцитів зростає з $162,8 \pm 6,3$ до $196,8 \pm 6,9$ μm^3 , тобто більший, ніж у разі токсичного коліту на 17,3%. Цей морфометричний показник на 10,0% менший від такого ж показника у контрольній групі тварин. Зазначимо, що в умовах патології простежується значне зменшення ядерно-цитоплазматичних співвідношень у малих міоцитах. У разі введення олігопептидних препаратів цей параметр зростає з $0,081 \pm 0,009$ до $0,099 \pm 0,011$. Різниця між наведеними цифрами значна, останній морфометричний показник перевищує попередній на 18,2%, однак менший на 11,7% від аналогічного контрольного.

У випадку дії на організм тварин ацетату свинцю відбуваються також зміни у субпопуляції середніх м'язових клітин. У разі дії коригувального чинника об'єми середніх лейоміоцитів у м'язовій оболонці товстої кишки зменшуються з $5678,5 \pm 70,2$ до $5396 \pm 57,4$ μm^3 , тобто на 5,0%, і це значення наближається до контрольного.

Таблиця 2

Об'ємні характеристики міоцитів м'язової оболонки товстої кишки дослідних тварин у разі токсичного коліту, $M \pm m$

Міоцити	Група тварин		
	перша	друга	третя
	Об'єм міоцитів, мкм^3		
Малі	1953,8 ± 20,1	2010,9 ± 50,6	1968,3 ± 32,7
Середні	5278,9 ± 50,4	5678,5 ± 70,2*	5396,7 ± 57,4
Великі	9063,3 ± 86,4	9987,4 ± 80,1***	9504,6 ± 83,4**
	Об'єм ядер, мкм^3		
Малі	218,6 ± 7,2	162,8 ± 6,3**	196,8 ± 6,9*
Середні	200,5 ± 6,3	227,1 ± 8,7	206,2 ± 6,4
Великі	198,4 ± 5,7	409,5 ± 9,3***	304,2 ± 7,3***
	Ядерно-цитоплазматичні відношення		
Малі	0,112 ± 0,012	0,081 ± 0,009*	0,099 ± 0,011
Середні	0,038 ± 0,003	0,040 ± 0,006	0,039 ± 0,004
Великі	0,022 ± 0,001	0,041 ± 0,003**	0,030 ± 0,002***

Примітка. Зірочкою позначені дані, що статистично достовірно відрізняються від контрольних: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

З'ясовано, що в умовах токсичного коліту зростають об'єми ядер середніх міоцитів. У разі введення олігопептидів цей показник зменшується з $227,1 \pm 8,7$ до $206,2 \pm 6,4 \text{ мкм}^3$, що на 9,3% менше від попереднього, і статистично достовірно від нього відрізняється.

Ядерно-цитоплазматичні співвідношення у середніх міоцитах в умовах корекції знижуються з $0,040 \pm 0,006$ до $0,039 \pm 0,004 \text{ мкм}$, тобто на 2,5% нижчі, ніж у другій групі тварин. Цей морфометричний параметр статистично достовірно не відрізняється від аналогічного контрольного.

Значимо, що суттєвих змін зазнають і великі міоцити м'язової оболонки товстої кишки, об'єм яких у разі токсичного ураження зростає. А у випадку введення олігопептидних препаратів цей показник зменшується з $9987,4 \pm 80,1$ до $9504,6 \pm 83,4 \text{ мкм}^3$. Між цими морфометричними показниками знайдена статистично достовірна різниця. Останній параметр менший від попереднього на 4,9%. Він суттєво не відрізняється від параметра в інтактній групі тварин.

В умовах токсичного коліту зростає об'єм ядер великих міоцитів. Під впливом коригувального середника цей показник зменшується з $409,5 \pm 9,3$ до $304,2 \pm 7,3 \text{ мкм}^3$, тобто на 25,8%, але все ж вищий порівняно з показником тварин контрольної групи.

Виявлено, що в умовах корекції мають тенденцію до зменшення ядерно-цитоплазматичні співвідношення у великих лейоміоцитах м'язової оболонки товстої кишки, які в разі експериментального коліту зростають. Цей морфометричний параметр під впливом олігопептидних препаратів у досліджуваних клітинах зменшується з $0,041 \pm 0,003$ до $0,030 \pm 0,002$, тобто на 26,9%, що достовірно не відрізняється від аналогічного контрольного. Знайдені зміни свідчать про поліпшення основ структурного гомеостазу в досліджуваних клітинах [1].

Отже, у разі корекції експериментального токсичного коліту олігопептидними препаратами товщина м'язової оболонки товстої кишки зменшується на 12,3%. Знижується під дією коригувального чинника і стромальний набряк. Низькомолекулярні β -казеїнові пептидні препарати позитивно впливають на структуру м'язової оболонки товстої кишки в разі токсичного коліту, суттєво поліпшуючи просторові параметри малих, середніх і великих гладких міоцитів м'язової оболонки досліджуваного органа і наближаючи до норми кількісне співвідношення лейомиоцитів між цими субпопуляціями. Все це свідчить про підвищення адаптаційних резервів м'язової оболонки під дією олігопептидних препаратів, які можна рекомендувати для включення в комплекс коригувальних засобів у випадку цієї патології.

1. *Автандилов Г. Г.* Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. 280 с.
2. *Вайль С.С.* Мозаичный характер патогенетических изменений гипертрофированного миокарда // Клиническая медицина. 1978. Т. 56. С. 24-28.
3. *Вологодина Н.Н., Суворова Г.Н.* Развитие различных типов мышечных волокон наружного сфинктера прямой кишки // Морфология. 2002. № 23. С. 33.
4. *Гнатюк М.С., Лісничук Н.Є., Блащак П.М.* Морфофункціональні особливості товстої кишки при експериментальному токсичному коліті // Укр. мед. альманах. 2000. Т. 3. № 3. С. 44-46.
5. *Дегтярова И.И., Скрыпник И.П., Козачок Н.Н.* Эффективность применения сульпицида в комплексном лечении больных с заболеваниями органов пищеварения // Сучасна гастроентерологія. 2002. № 3. С. 69-75.
6. *Зашихин А.Л., Селин Я., Агафонов Ю.В.* Реактивная перестройка гладкой мышечной ткани при применении крупнофракционного облучения рака прямой кишки // Архив патологии. 1999. Т. 61. № 1. С. 26-30.
7. *Коляда І.О., Дяк Л.І., Лозинський Ю.С.* Діагностика і лікування ішемічного коліту // Практична медицина. 2002. № 1. С. 6-7.
8. *Корбакова А.И., Сорокина Н.С., Молодкина Н.Н.* Свинец и его действие на организм // Медицина труда и промышленная экология. 2001. № 5. С. 29-30.
9. *Кундиев Ю.И., Стежжа В.А., Дмитруха Н.Н.* Зависимость изменения иммунных и биохимических механизмов поддержания гомеостаза от материальной кумуляции свинца в организме (экспериментальное исследование) // Медицина труда и промышленная экология. 2001. № 5. С. 11-17.
10. *Куценко Г.И., Здольник Т.Д.* Заболеваемость рабочих болезнями органов пищеварения в условиях воздействия свинца // Гигиена и санитария. 2003. № 2. С. 31-34.
11. *Луговий Б.Л., Юкало В.Г.* Імуномодуляційні та антимікробні властивості казеїнових пептидів коров'ячого молока // Львів. мед. часопис. 2002. Т. 8. № 2. С.90-96.
12. *Малыхина Т.И.* Эффективность применения внутриорганного электрофореза колибактерина в восстановительном лечении больных хроническим неязвенным колитом // Мед. реабилитация, курортология, физиотерапия. 2004. № 2. С. 20-23.
13. *Мамбеева А.А.* Поражение желудочно-кишечного тракта при свинцовой интоксикации. Алма-Ата: Казахстан, 1975. 180 с.

14. *Стан Е.Я.* Казеины молока и их физиологически активные пептиды // Вопр. питания. 1987. № 1. С. 3-9.
15. *Юкало В.Г.* Інтенсифікація протеолізу α s¹-казеїну лактококами з метою одержання фізіологічно активних пептидів // Мед. хімія. 2002. Т. 4. С. 33-36.
16. *Brantl V., Teschemacher H., Henschen A.* Novel opioid peptides derived from casein (β -Casomorphins). Isolation from bovine casein peptone // *Happi-Seylers Zeitschrift für physiologische Chemie.* 1979. Vol. 360. P. 1211-1216.
17. *Carratu R., Parisi P., Agozzino A.* Segmental ischemic colitis associated with nonsteroidal antiinflammatory drugs // *J. Clin. Gastroenterology* 1993. Vol. 16. P. 31-34
18. *Dobryszczycka W., Owczarzer H.* Effects of Pb, Cu, Zn on rat's lactate dehydrogenase in vivo and in vitro // *Arch. Toxicol.* 1981. Vol. 48. P. 21-27.
19. *Mierau I., Kunji E., Venema G.* Caseons and peptide degradation in lactic acid bacteria // *Biotechnology and Engineering Reviews.* 1997. Vol. 14. P. 279-301.
20. *Yoshikawa M., Yochimura T., Chiba H.* Opioid peptides from human β -casein // *Agricultural and Biological Chemistry.* 1984. Vol. 48. P. 3185-3187.

**EFFECT OF OLIGOPEPTIDES PREPARATION ON STRUCTURAL
CHANGES OF LARGE INTESTINAL SMOOTH MUSCULAR SHEET
IN CASE OF PLUMBUM INTOXICATION DAMAGE**

M. Hnatjuk , L. Rybitska *

**I. Ya. Gorbachevskiy State Medical Academy of Ternopil
Maidan Voli, 1, Ternopil, 46001, Ukraine
e-mail: academy@tdma.edu.te.ua*

It has been established in an experiment that chronic plumbum intoxication is accompanied by a serious damage of the colon which is demonstrated by alteration, infiltration and atrophical processes. On white rats with chronical toxic colitis was evaluate the positive effect of oligopeptides preparation on structural changes of colon smooth muscular sheet.

Key words: chronic lead intoxication, smooth muscular sheet, damage colon, morphometry, oligopeptides preparation.

Стаття надійшла до редколегії 23.11.2004

Прийнята до друку 30.12.2004