

ОСОБЕННОСТИ ГИСТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ТОНКОЙ КИШКЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Бахтин А.А.

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Астрахань, Россия (414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121), levinson-levinson@rambler.ru

Изучались особенности гистохимических показателей в тонкой кишке при действии сероводородсодержащего газа Астраханского месторождения в предельно допустимой концентрации. Показано, что при моделировании неблагоприятных факторов окружающей среды в тонкой кишке отмечается перераспределение общего белка с преимущественной локализацией его в периваскулярном пространстве. Отмечено замещение нейтральных мукополисахаридов на кислые, с преобладанием последних в секретируемом продукте бокаловидных клеток. Кроме того, на поздних стадиях эксперимента в подслизистой основе было выявлено периваскулярное отложение сиаломуцина, а также отложение последнего в стенке мелких сосудов, что свидетельствует о плазматическом пропитывании. Помимо гистохимических изменений, отмечается разволокнение соединительнотканного каркаса как собственной пластинки слизистой, так и подслизистой основы, истончение мышечной пластинки слизистой и мышечной оболочки. Данные изменения характерны для хронической прогрессирующей патологии желудочно-кишечного тракта. Таким образом, ингаляции сероводородсодержащего газа Астраханского месторождения в предельно допустимой концентрации на протяжении 4 месяцев способны вызвать необратимые изменения в стенке тонкой кишки.

Ключевые слова: тонкая кишка, кислые мукополисахариды, нейтральные мукополисахариды, общий белок, сероводородсодержащий газ, неблагоприятные факторы окружающей среды.

PECULIARITY OF HISTOCHEMICAL INDICATORS IN A SMALL INTESTINE UNDER INFLUENCE OF BAD ECOLOGICAL FACTORS

Bakhtin A.A.

*Astrakhan State Medical Academy, Astrakhan
Astrakhan, Russia (414000, Astrakhan, st. Backinskaya 121), levinson-levinson@rambler.ru*

We are learned histochemical indexes in small intestine after influence of the hydrogen sulfide of the Astrakhan deposit in maximum permissible dose – 3 mg/m³. It was shown that under the modeling of unfavorable factors of environment, in small intestine was observed repartition of common protein, which

localization was in perivascular space mainly. It was observed that neutral mycopolysaccharides were substitute for acid polysaccharides, which predominate in a secret product of the cyathiform cells. In addition on the latest stagiest of the experiment in submucose cover we are found the deposit of the acid glycosaminoglycans around the vessels. Besides on the latest stages of the experiment in the submucous layer was revealed the perivascular sediment of sialomutsin and its sedimentation in the wall of the small vessels. It is the evidence of plasmatic impregnation. Besides of histochemical changes it was observed garneting of the connective- tissue frame both own mucous blade and submucous layer, so it was observed the thinning of the muscular blade of the mucous and muscular coats. Such changes are typical for chronicle progressive pathology of alimentary tract. So inhalation of the hydro sulfuric gaze of the Astrakhan deposit in maximum permissible concentration during the 4 month can cause the irreversible changes in the wall of small intestine.

Key words: small intestine, acid polysaccharides, neutral mycopolysaccharides, common protein, hydro sulfuric gaze, unfavorable factors of environment.

Введение

Эпителиальные клетки кишечника находятся в постоянном контакте с множеством чужеродных антигенов, поступающих с пищей к так называемым биологическим барьерам, основной задачей которых является поддержание гомеостаза организма. Необходимая для этого целостность эпителия обеспечивается интенсивными процессами клеточной регенерации, изучение механизмов регуляции которых относится к разряду наиболее разрабатываемых научных направлений [4]. Смена эпителия в тонкой кишке у животных на этапе половой зрелости происходит быстро. Для поддержания клеточного гомеостаза необходимо несколько условий, одно из них – это микроокружение, представленное как клеточными элементами клетки, так и неклеточными компонентами ткани [5]. К одним из таких компонентов можно отнести мукополисахариды. В кишечной стенке наиболее распространены нейтральные мукополисахариды и в меньшей степени сиаломуцины или кислые мукополисахариды .

Цель работы. Проследить динамические изменения в тонкой кишке, связанные с углеводным и белковым обменом при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды.

Материалы и методы исследования

Экспериментальными животными стали белые беспородные крысы, самцы, массой 250–300 граммов в количестве 50 штук. Все животные были разбиты на пять групп, первая из которых контрольная и четыре – экспериментальные. Исследования проводились на животных в осенне-зимний период с целью исключения влияния сезонных ритмов. Контрольные животные помещались в затравочную камеру на тот же срок с обычным составом дыхательной смеси без примеси газа [3]. Первое выведение животных из

эксперимента осуществлялось через месяц, а в дальнейшем один раз в месяц. Для изучения гистохимических изменений в стенке тонкой кишки при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды выступал сероводородсодержащий газ Астраханского месторождения. Моделирование хронического эксперимента при ингаляции воздушно-газовой смеси проводилось согласно гигиеническим нормам к требованию выполнения и воспроизведения эксперимента (Токсикометрия химических веществ, 1986). Статические ингаляционные затравки животных осуществлялись в специальных затравочных камерах производства Московского института профзаболеваний и гигиены труда им. Эрисмана объемом 200 литров. Микроклимат в затравочной камере поддерживался в следующих пределах: температура +25 °С, относительная влажность 65%. Моделирование неблагоприятных факторов внешней среды на интактных крысах проводили при помещении их в атмосферу сероводородсодержащего газа в концентрации $3,12 \pm 0,07 \text{ мг/м}^3$ по сероводороду, являющемуся наиболее активным компонентом природного газа [2; 6], в течение четырех часов на протяжении пяти дней в неделю. Измерение концентрации газа в камере производилось с помощью газохроматографических трубок по сероводороду. Выявление гистохимических изменений в стенке тонкой кишки производилось с помощью следующих окрасок: окраской прочным зеленым для выявления в ткани белка, который окрашивался в зеленый цвет. Шик-реакция в сочетании с альциановым синим для обнаружения нейтральных мукополисахаридов и сиаломуцина, где первый окрашивается в розовый цвет, а сиаломуцин – в голубой; структуры, содержащие оба компонента, имели фиолетовую окраску.

Результаты исследования и их обсуждение

Окрашивание тонкой кишки контрольной группы прочным зеленым показало значительное содержание белка во всех структурах, включая эпителий, соединительную и мышечную ткани; бокаловидные клетки и нервные сплетения окрасились менее интенсивно. Наиболее интенсивная окраска наблюдалась в наружном циркулярном мышечном слое, вокруг нервных сплетений, в периваскулярных структурах, в мышечной пластинке, слизистой оболочке, а также в гранулах клеток Паннета и апикальной части ворсинки. В собственной пластинке хорошо контрастируют с общим фоном пучки волокон, заходящие в ворсинки и повторяющие ее форму. Сосуды окрашены неравномерно, их базальная мембрана имеет слабую реакцию в отличие от меди, которая имеет темно-зеленый цвет, плавно переходящий в подлежащие структуры. За счет содержания в них нейтральных мукополисахаридов основное вещество, коллагеновые волокна и мышечная ткань дают умеренно положительную реакцию. Ввиду этого стенка сосуда получает гомогенное

окрашивание. Из-за неодинаковой способности накапливать гликоген интенсивность окраски в паренхиме менее однородна. Для выявления сиаломуцинов, помимо проведения классической Шик-реакции, препараты докрасивались альциановым синим. В начальной стадии секреторного цикла бокаловидные клетки имеют секрет, содержащий только нейтральные муцины. Несколько выше, на переходе с крипт на ворсинку, содержимое этих клеток приобретает темно-фиолетовый цвет, что свидетельствует о нахождении как нейтрального, так и кислого муцинов. В клетках Паннета и на боковой поверхности нижней трети ворсинок, главным образом, определяется имеющий голубую окраску сиаломуцин. Подслизистая и собственная пластинка слизистой окрашены в ярко-малиновый цвет, на фоне которого четко определяются волокна, имеющие более темный цвет. Сосуды окрашены в малиновый цвет, что говорит о преобладании в их стенке нейтральных мукополисахаридов.

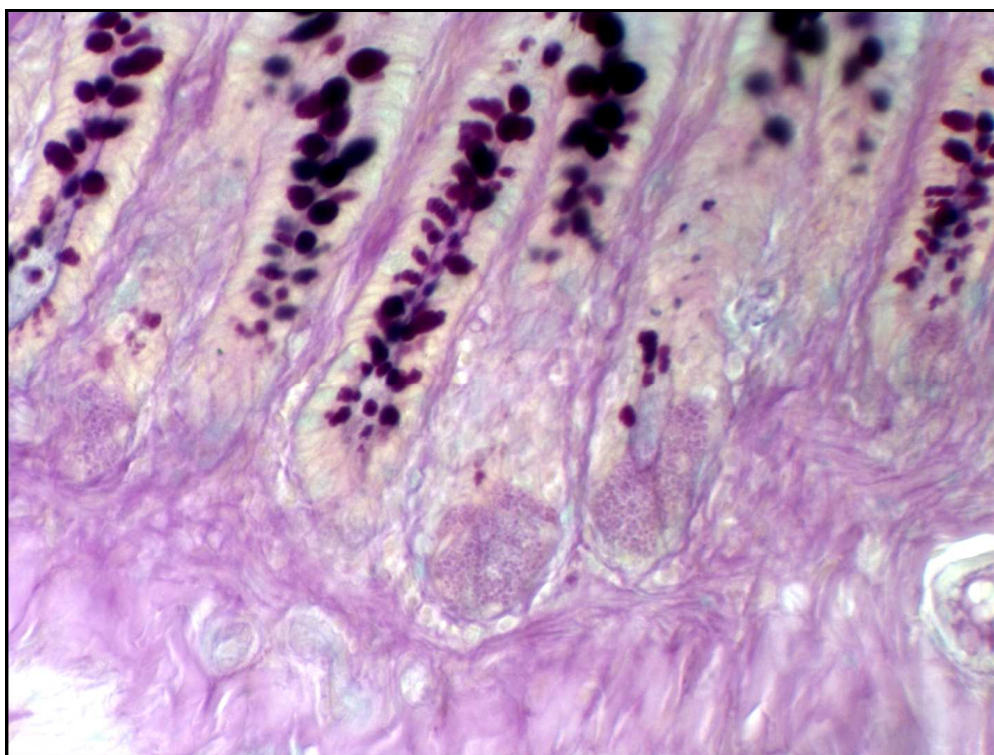


Рис. 1. Распределение нейтрального муцина и сиаломуцинов в крипте тонкой кишки. Контрольная группа. Окраска Шик-реакция, альциановый синий. Ув.: об. 40, ок. 10.

Через один месяц после начала эксперимента на препаратах, окрашенных прочным зеленым, на фоне общего просветления препарата отмечалось незначительное перераспределение белка в эпителиальном пласте ворсинки, появились участки эпителия с менее интенсивной окраской в апикальной части и на боковых поверхностях ворсинки. В апикальной части энтероцитов выявлялись мелкозернистые гранулы, с более насыщенной окраской. В криптах клетки имели зернистую структуру, отчетливо определяемую на фоне просветления. Сосудистая стенка оставалась по-прежнему интенсивно окрашенной. В

периваскулярном пространстве никаких изменений не выявлено. Шик-реакция в сочетании с альциановым синим через один месяц эксперимента дала большую выраженность по сравнению с прочным зеленым. На фоне структур, окрашенных в розовый цвет, что свидетельствует о содержании нейтрального муцина, появились значительные отложения сиаломуцина. Последний определялся не только в клетках Паннета и нижней трети боковой поверхности ворсинок, но и в сосудистой стенке с незначительным выходом в периваскулярное пространство в подслизистой основе и мышечной пластинке слизистой оболочки. Отмечалось перераспределение сиаломуцина и его более интенсивная окраска в клетках Паннета. Большая часть бокаловидных клеток, находящихся на разных стадиях своего секреторного цикла, характеризовалась тем, что с момента формирования они содержали в себе два типа муцина, о чем свидетельствует разная интенсивность их темно-фиолетовой окраски. Помимо изменения содержимого гранул бокаловидных клеток, увеличилось и их количество. Появились отдельные бокаловидные экзокриноциты, которые содержали в себе муцин только кислой природы. Таким образом, на протяжении первого месяца эксперимента отмечалось перераспределение белка с неравномерным уменьшением количества в эпителии и накоплением его в апикальной части клетки. Сосудистая стенка оставалась без изменений. Накопление сиаломуцина происходило преимущественно в области крипт, с преобладанием в секрете бокаловидных клеток. Накопление сиаломуцина отмечалось также в сосудистой стенке с незначительным выходом его в периваскулярное пространство.

Через два месяца после начала эксперимента на препаратах, окрашенных прочным зеленым, определялось уменьшение интенсивности окраски не только эпителиального пласта, но и в области сосудистой стенки и мышечной оболочки. На препаратах, окрашенных фуксин-сернистой кислотой, альциановым синим, в собственной пластинке слизистой оболочки определялось значительное отложение сиаломуцинов с преобладанием их в секрете бокаловидных клеток и накоплением в подслизистой и мышечном слоях. Таким образом, через два месяца эксперимента в собственной пластинке слизистой оболочки и подслизистой основе отмечалось снижение интенсивности окраски прочным зеленым сосудистой стенки и накопление сиаломуцинов, а также изменение состава секрета бокаловидных клеток с преобладанием в них кислых муцинов.

После трех месяцев хронического воздействия при окрашивании прочным зеленым кровеносные сосуды теряют свою интенсивную и однородную окраску, вокруг них определяется значительное скопление белка, окрашенного в более интенсивный зеленый цвет. Собственная пластинка слизистой становится прерывистой. Волокна, определяемые ранее в собственной пластинке слизистой, исчезают или имеют прерывистый характер. При

окраске Шик-реакции, альциановым синим, отмечалось дальнейшее отложение сиаломуцинов в подслизистой основе и собственной пластинке слизистой оболочки. При более детальном изучении сосудов было обнаружено накопление сиаломуцинов в сосудистой стенке с сохранением положительной Шик-реакции в интиме.

Четвертый месяц эксперимента характеризовался значительными гистохимическими изменениями показателей. Окрашивание фуксин-сернистой кислотой носит неоднородный характер. Умеренную реакцию дают только волокнистые структуры. Последние в участках, инфильтрированных клетками, теряют свою направленность и располагаются хаотично. При докрасивании альциановым синим определяется его повсеместное распространение. В бокаловидных клетках на всех стадиях жизненного цикла преобладают кислые мукополисахариды. Определяется значительное отложение сиаломуцина в периваскулярной области. Мышечная оболочка окрашена неравномерно, с одинаковым распределением как нейтральных, так и кислых мукополисахаридов. Окрашивание прочным зеленым мышечной оболочки кишечной стенки достаточно интенсивное. Последняя имеет неровные контуры и местами значительно истончена. Собственная пластинка слизистой приобретает прерывистый вид, неоднородно окрашена, волокна хаотично направлены, слабо окрашенные. Подслизистая основа и сосудистая стенка имеют также неоднородную структуру. Определяются участки периваскулярного отложения белка в виде ячеистой структуры.

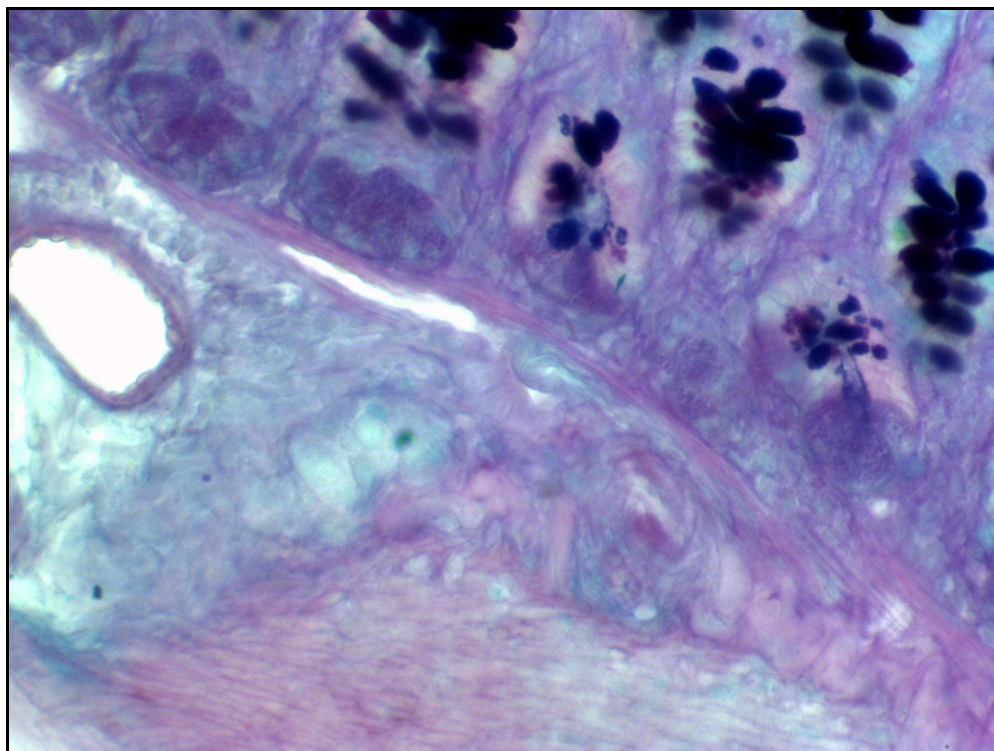


Рис. 2. Замещение нейтральных мукополисахаридов на кислые. Периваскулярные отложения сиаломуцина через 4 месяца хронической интоксикации. Окраска Шик-реакция, альциановый синий. Ув.: об.40, ок.10.

Выводы

Таким образом, наиболее значимыми проявлениями эксперимента являются изменения гистохимической картины в тканях кишечника, что связано, прежде всего, с общим перераспределением белка как в соединительнотканном каркасе, так и в эпителиальном пласте. Изменяется мукополисахаридный состав, замещаясь с нейтрального на кислый. Отмечается преобладание сиаломуцинов в секретируемом продукте бокаловидных клеток. Истончается мышечная пластинка слизистой и мышечная оболочка. Происходит диссоциация соединительнотканых компонентов собственной пластинки слизистой и подслизистой основы. Кроме того, накопление кислых мукополисахаридов в стенках мелких артерий, а также в периваскулярной области рассматривается как плазматическое пропитывание, которое уже было описано как характерный признак для хронических прогрессирующих заболеваний желудочно-кишечного тракта [1].

Список литературы

1. Берлин Л.Б., Лисочкин Б.Г., Сафонов Г.И. Атлас патологической гистологии слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки. – М. : Медицина, 1975. – 129 с.
2. Измеров Н.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии. – М. : Медицина, 1971. – 303 с.
3. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия): акад. мед. наук СССР / под ред. И.В. Саноцкого. – М. : Медицина, 1970. – 76 с.
4. Темчура В.В. Роль растворимых факторов, продуцируемых эпителиальными клетками тонкого кишечника мыши, в регуляции гемо-, иммуно- и энтеропоэза : автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Новосибирск, 2001. – 8 с.
5. Толстая М.В. Математическое моделирование кинетики клеточной популяции кишечного эпителия : автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук. – СПб., 2006. – 14 с.
6. Штабский Б.М. О методике определения токсичности и кумулятивности веществ в остром опыте // Гиг. труда. – 1974. – № 1. – С. 23–27.

Рецензенты:

Сентюрова Л.Г. д.м.н., профессор, зав. кафедрой медицинской биологии и генетики ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, г. Астрахань.

Удочкина Л.А., д.м.н., зав. кафедрой анатомии человека ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, г. Астрахань