

УДК 612.017.34:616.34-099

**МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ
ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС-ADOLESCENTS В УСЛОВИЯХ
ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ АЦЕТАТОМ СВИНЦА И СУЛЬФАТОМ КАДМИЯ**

П.А. Елясин, С.В. Залавина, А.Н. Машак, Ю.Р. Равилова, Д.М. Первойкин

Проведено исследование хронического субтоксического воздействия ацетата свинца и сульфата кадмия на слизистую оболочку тонкой кишки у крыс-adolescents. Выявлены особенности регенеративных процессов в эпителии тонкой кишки и отмечено негативное влияние длительно действующих соединений кадмия и свинца на пролиферативную способность слизистой оболочки тонкой кишки.

Ключевые слова: тонкая кишка; свинец; кадмий; пролиферация.

**MORPHOMETRIC STUDY OF THE SMALL INTESTINAL MUCOSA
RAT-ADOLESCENTS IN CHRONIC INTOXICATION
WITH LEAD ACETATE AND SULFATE CADMIUM**

P.A. Elyasin, S.V. Zalavina, A.N. Mashak, Y.R. Ravilova, D.M. Pervoykin

The article conducts the research of chronic exposure impact of lead acetate and cadmium sulfate in the villi of the small intestine in adolescent rats. Features of regenerative processes in an epithelium of the small intestine are taped and the negative impact is noted it is long the operating bonds of cadmium and lead on proliferative ability of the villi of the small intestine.

Keywords: small intestine; lead; cadmium; proliferation.

Актуальность. Энтероциты, выстилая поверхность ворсинки, составляют более 90 % всех клеток кишечного эпителия. На втором месте по численности в тонкой кишке стоят бокаловидные клетки, которые выполняют секреторные функции. Выделяемый ими в просвет кишечника слизистый секрет содержит белки и углеводы, обеспечивающие механическую защиту энтероцитов, а также создающие оптимальные условия для работы пищеварительных ферментов. Клетки эпителия кишечника постоянно обновляются. Время жизни большинства энтероцитов не превышает 3–4 суток. Столь высокие темпы физиологической регенерации обеспечиваются постоянной пролиферацией стволовых клеток, которые локализованы в стенке крипты [1].

Кишечник постоянно подвергается воздействию различных биотических и абиотических неблагоприятных факторов, которые в конечном итоге приводят к формированию гипоксии [2, 3]. Вследствие этого происходит сдвиг клеточного соотношения, который является необходи-

мым для поддержания адекватного функционирования [4].

Исследование структурно-клеточных взаимоотношений в системе “крипта – ворсинка” при воздействии токсических экзогенных факторов необходимо для понимания развития патологических процессов в тонкой кишке в условиях измененной внешней среды, что дает основу для совершенствования диагностики, профилактики и лечения экзотоксикозов, особенно у молодого организма.

Цель исследования – исследовать структурно-клеточные изменения слизистой оболочки тонкой кишки крыс-adolescents при хроническом субтоксическом воздействии ацетата свинца и сульфата кадмия.

Материал и методы. Крысам самцам-adolescents Wistar (10 крыс) в возрасте 4 недель в стандартных условиях вивария per os с пищей вводили раствор $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ – 10 мг/кг и $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$ – 0,5 мг/кг живого веса в течение 21 суток. Контрольная группа (10 крыс) получала аналогичный корм без тяжелых металлов.

Таблица 1 – Морфометрические показатели слизистой оболочки тонкой кишки у крыс-самцов-adolescent Wistar при сочетанной хронической интоксикации кадмием и свинцом

Показатели	Контроль	Опыт	Критерий Манна – Уитни
Количество энтероцитов в ворсинке	76,5 ± 4,42	51,5 ± 4,33	p = 0,002
Энтероциты апикальной части ворсинки			
Высота, мкм	22,89±0,66	19,11±0,78	p = 0,006
Площадь, мкм ²	133,85±1,96	118,37±2,99	p = 0,001
Площадь ядра, мкм ²	20,9±0,91	18,45±0,91	p = 0,076
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,185	0,184	
Энтероциты боковой поверхности ворсинки			
Высота, мкм	31,17 ± 2,83	20,89 ± 1,89	p = 0,0001
Площадь, мкм ²	168,17 ± 15,29	125,78 ± 11,43	p = 0,002
Площадь ядра, мкм ²	33,91 ± 3,08	30,17 ± 2,51	p = 0,131
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,315	0,399	
Бокаловидные эпителиоциты			
Высота, мкм	30,89 ± 2,81	21,86 ± 1,82	p = 0,001
Площадь, мкм ²	184,32 ± 15,36	191,21 ± 17,38	p = 0,496
Площадь ядра, мкм ²	26,33 ± 2,39	20,05 ± 1,82	p = 0,008
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,116	0,083	
Количество в ворсинке	9,1 ± 0,89	12,7 ± 1,32	p = 0,026

Животных выводили из эксперимента путем декапитации под наркозом эфира с хлороформом с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, и в соответствии с требованиями правил проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Для гистологических исследований образцы тканей (тонкая кишка) фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и после соответствующей проводки заливали в парафин. Готовили гистологические срезы толщиной 10–15 мкм, окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали с помощью микроскопа Axio Scope.A1 (С. Zeiss) с программным обеспечением для анализа изображений BioVisionVersion 4.0.

При морфометрии определяли: количество, высоту, площадь клеток и ядер энтероцитов и бокаловидных клеток. Рассчитывали ядерноцитоплазматический индекс. Измерения проводили при увеличении 63 × 10.

Статистическая обработка полученных цифровых данных проводилась с использованием статистического пакета SPSS 17.0. Для оценки значимости различий между группами использовался

непараметрический метод Манна – Уитни. Также использовался метод вариационной статистики: вычисление средней арифметической (М) и ее ошибки (m). При оценке статистических гипотез принимались уровни значимости $p \leq 0,05$ [5].

Результаты исследования и их обсуждение.

После хронического субтоксического сочетанного воздействия ацетатом свинца и сульфатом кадмия в стенке тонкой кишки наблюдались признаки хронического нарушения кровообращения: полнокровие капилляров в ворсинках и сосудов собственной оболочки тонкой кишки.

В эпителиальном пласте слизистой оболочки выявили морфологические признаки деструкции – десквамацию ворсинчатого эпителия с “обнажением” собственной пластинки, вплоть до некроза ворсинок, хорошо различимы разрушенные клетки и остатки клеточных элементов. Количество энтероцитов в ворсинке снижается в 1,49 раза – 51,5 ± 4,33 (p = 0,002) (таблица 1).

Визуализируются уплощенные эпителиоциты на апикальной поверхности ворсинок – высота энтероцитов 19,11 ± 0,78 (p = 0,006) против 22,89 ± 0,66 в контроле.

Увеличилось количество бокаловидных клеток в ворсинке – 12,7 ± 1,32 (p = 0,026), которые

компенсаторно проявляют повышенную секреторную активность с выходом секреторных гранул на поверхность энтероцитов и в просвет кишки. Отмечалось снижение ядерно-цитоплазматического индекса с 0,116 до 0,083 за счет уменьшения площади ядер бокаловидных эпителиоцитов и увеличения площади цитоплазмы, что опять же свидетельствует в пользу повышенного слизеобразования.

Из вышеизложенного следует, что проведенное исследование выявило возрастание дегенеративных процессов в слизистой оболочке тонкой кишки при хроническом воздействии тяжелых металлов, что проявлялось в уменьшении площади клеток и их ядер всего эпителиального пласта на фоне увеличения количества бокаловидных клеток в ворсинках тонкой кишки.

Однако, несмотря на агрессивное токсическое воздействие, эпителий тонкой кишки крыс сохраняет пролиферативную активность и частично восстанавливает свою морфофункциональную целостность, о чем свидетельствует наличие вновь образованных энтероцитов на боковой поверхности ворсинки тонкой кишки, которые перемещаются из крипт к апикальной поверхности ворсинки.

В целом, формируется баланс между альтеративными изменениями токсического генеза и компенсаторными процессами в эпителии тонкой кишки крыс-adolescents Wistar в подростковом возрасте, что позволило животным выжить в условиях эксперимента.

Полученные цифровые результаты позволяют выявить особенности регенеративных процессов

в эпителии тонкой кишки и продемонстрировать негативное влияние длительно действующих соединений кадмия и свинца на пролиферативную способность слизистой оболочки тонкой кишки.

Литература

1. Хэм А. Гистология: в 5 т. / А. Хэм, Д. Кормак. М.: Мир, 1983. Т. 4. 245 с.
2. Бардин В.С. Изменение морфологического состояния тонкого кишечника крыс в условиях хронической интоксикации ацетатом свинца / В.С. Бардин, О.С. Шубина, Н.А. Мельникова // Современные проблемы науки и образования. 2012. № 6. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=7620>.
3. Chronic ingestion of cadmium and lead alters the bioavailability of essential and heavy metals, gene expression pathways and genotoxicity in mouse intestine / J. Breton, K. Le Clère, C. Daniel, M. Sauty et al. // Arch. Toxicol. 2013. Vol. 87. № 10. P. 1787–1795.
4. Tomaszewska E. Hematological and serum biochemical parameters of blood in adolescent rats and histomorphological changes in the jejunal epithelium and liver after chronic exposure to cadmium and lead in the case of supplementation with green tea vs black, red or white tea / E. Tomaszewska, A. Winiarska-Mieczan, P. Dobrowolski // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2015. Vol. 22. № 4. P. 3175–3179.
5. Ланг Т.А. Как описывать статистику в медицине: руководство для авторов, редакторов и рецензентов / Т.А. Ланг, М. Сесик; пер. с англ. М.: Практическая медицина, 2016. 480 с.