THYMIC MAST CELL LOCALIZATION AT DIFFERENT STAGES OF THE ONTOGENESIS IN THE MOUSE

V. V. Gusev'nikova, V. F. Sinitsyna, Ye. D. Korol'kova, A. D. Kharazova and A. V. Polevshchikov

The aim of this research was to characterize the population of thymic mast cells (MC) which were demonstrated by histochemical methods, at different stages of mouse ontogenesis. First MCs appeared on day 19 of intrauterine life. MCs were localized to the

thymic medulla during the whole embryonic period. Individual MCs could also be identified within the cortex. Single MCs were interspersed among other thymic medullary cells. In the newborn, young and mature animals, MCs were observed in the connective tissue of the capsule and in the interlobular septa, but some MCs were also found inside the thymic lobules. In the last-mentioned case, MCs were located in the subcapsular zone. The possible functional significance of MCs localization is discussed.

Key words: mast cells, thymus, ontogenesis, mouse

Department of Cytology and Histology, St. Petersburg State University

© Л. М. Яковлева, 2012
УДК 611.343/.344:613.81:599.323.4

Л. М. Яковлева

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

Кафедра общей и клинической патологии с курсом судебной медицины (зав. — проф. Л. Н. Иванов),
Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова, г. Чебоксары, e-mail: 28Lybov@mail.ru

Проведен гистологический, морфометрический и гистохимический анализ слизистой оболочки тощей кишки 40 взрослых крыс-самцов после алкогольной интоксикации сроком 2, 4 и 6 мес. Показано, что при алкогольной интоксикации сроком 2 мес возникает гипертрофия слизистой оболочки со значительным увеличением содержания бокаловидных клеток. Через 4 мес наблюдается тенденция к угнетению митотической активности энтероцитов со снижением активности регенерации. Атрофия слизистой оболочки к 6-му месяцу усиливается. Морфологические изменения слизистой оболочки сочетаются с угнетением активности щелочной фосфатазы в энтероцитах с наиболее выраженным снижением ее активности в клетках, расположенных на вершине ворсинок. Максимальное снижение активности фермента проявляется к 6-му месяцу.

Ключевые слова: тощая кишка, энтероциты, бокаловидные клетки, щелочная фосфатаза, алкоголь

При алкогольной болезни слизистая оболочка пищеварительного тракта постоянно подвергается воздействию этанола. Тощая кишка, куда попадает значительное количество алкоголя, характеризуется большим количеством длинных кишечных ворсинок, которые обеспечивают всасывание основной массы кишечного содержимого, в том числе и этанола. Токсическое действие последнего на однослойный столбчатый эпителий и подлежащие ткани обусловлено в основном продуктами его метаболизма. Возникающие повреждения влекут за собой изменение динамического взаимоотношения между пролиферирующими, дифференцирующимися и функционирующими клетками, которые сопровождаются структурными и функциональными нарушениями. Функциональные расстройства тощей кишки проявляются изменениями активности ферментов. Особый интерес представляет трансмембранный фермент щелочная фосфатаза (ЩФ), так как кишечник относится к числу органов, наиболее богатых данным фер-

ментом [1, 12]. Динамика его активности тесно связана со скоростью миграции, дегенерации и деструкции кишечного эпителия [11].

Сведения о морфологических и энзимологических нарушениях тощей кишки при алкогольной интоксикации могут представлять как теоретический, так и практический интерес при диагностике, лечении и профилактике алкогольной кишечной недостаточности, поскольку позволяют оценить патогенез развивающихся повреждений кишечника при алкоголизме. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение экспериментальных морфофункциональных изменений слизистой оболочки тощей кишки крыс при длительной алкогольной интоксикации.

Материал и методы. Исследование проведено с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР) и Федерального Закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г. на белых беспородных крысах-самцах массой 190–220 г, которые

были разделены на 2 группы: контрольную — интактные животные (n=10) и подопытную (n=30). Крысы подопытной группы в качестве единственного источника питья получали 20% раствор этилового спирта в течение 2, 4 и 6 мес (в каждую временную группу входило по 10 особей). Животных выводили из эксперимента путем декапитации, извлекали участок тощей кишки на расстоянии 20 см от желудка, фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин по стандартной методике. Гистологические поперечные срезы толщиной 15 мкм окрашивали гематоксилином–эозином. Препараты изучали с помощью микроскопа Биомед-1 (ЛОМО, Россия). При об. 40, ок. 10 с помощью программы Sigma Scan Pro измеряли: высоту ворсинок, глубину крипт, высоту энтероцитов. Подсчет числа энтероцитов и бокаловидных клеток проводили визуально при об. 40, ок. 10 в 10 ворсинках и криптах на 5 срезах, при использовании иммерсионного объектива в криптах подсчитывали фигуры митозов.

Активность ЩФ определяли гистохимическим методом на свежеприготовленных криостатных срезах толщиной 10 мкм при помощи реакции одновременного азосочетания с нафтолом AS-VI-фосфатом и прочным синим ВВ по М. Берстону [7]. Цитофотометрию проводили в проходящем свете с использованием микроскопа Микмед-2 (ЛОМО, Россия) при об. 40, ок. 10 и диаметре зонда 0,5 мм и фотоэлектронасадки ФМЭЛ-1 с ФЭУ-79 (ЛОМО, Россия). Для получения монохроматичного пучка света применяли интерференционный светофильтр с максимумом светопропускания ($\lambda_{\max}=624$ нм). Регистрацию светопропускания осуществляли с помощью цифрового вольтметра, выражая результат в относительных единицах (отн. ед.) оптической плотности.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием стандартного программного пакета Statistica 6.0 на персональном компьютере Pentium III. Оценку значимости цифровых данных проводили по t-критерию Стьюдента. Различия считали значимыми при $P<0,05$.

Результаты исследования. Изменения ворсинок тощей кишки через 2 мес воздействия алкоголя характеризуются увеличением их высоты до 108% по сравнению с контролем, числа энтероцитов — до 109% и их высоты — до 152%. Число бокаловидных клеток увеличивается на 34%. Через 4 мес незначительно (на 3%) уменьшается высота ворсинок по сравнению с контролем и на 4% — число энтероцитов. Высота последних остается увеличенной на 26%. Количество бокаловидных клеток продолжает возрастать и достигает 149%. К 6 мес хронической алкогольной интоксикации изменения в эпителии слизистой оболочки тощей кишки нарастают. Высота ворсинок уменьшается на 11%, сохраняется тенденция к уменьшению в них числа энтероцитов (на 17%). Их высота снижается на 3%. Повышенное содержание бокаловидных клеток сохраняется (таблица).

Крипты тощей кишки при 2-месячной алкоголизации характеризуются увеличенной глубиной (на 22%), число энтероцитов на поперечном срезе достигает 147%, бокаловидных клеток — 121%. Высота энтероцитов увеличивается на 12% по сравнению с контролем, на 29% повышается митотическая активность. Через 4 мес на 13% уменьшается митотическая активность эпителиальных клеток. Однако глубина крипт остается увеличенной на 10% за счет повышенного числа энтероцитов и их размера (соответственно на 5 и 2%). Количество бокаловидных клеток увеличивается до 159%. После 6-месячной алкоголизации на 21% снижается митотическая активность энте-

Характеристика структур слизистой оболочки тощей кишки крыс в различные сроки алкогольной интоксикации ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Структуры кишки	Исследованные параметры	Интактные животные (контроль)	Срок от начала опыта (мес)		
			2	4	6
Ворсинки	Высота ворсинок, мкм	439±6	477±6*	426±7*	390±6*
	Высота энтероцитов, мкм	22,8±0,4	34,6±0,7***	28,7±0,4*	21,99±0,29*
	Число энтероцитов	138±5	150±9	133±12	115±6**
	Доля бокаловидных клеток, %	10,6±1,0	14,1±1,0*	15,7±1,3**	13,3±0,7*
	Активность щелочной фосфатазы в энтероцитах, отн. ед.:				
на вершине ворсинок	0,93±0,06	0,78±0,03*	0,70±0,06*	0,66±0,08*	
у основания ворсинок	0,69±0,05	0,67±0,03*	0,590±0,025*	0,54±0,04*	
Крипты	Глубина крипт, мкм	196,8±2,5	240,4±2,5*	216±4*	210±3*
	Высота энтероцитов, мкм	22,1±0,7	24,8±0,5	22,7±0,5	19,4±0,4
	Доля митотически делящихся клеток, %	16,5±1,2	21,3±2,0*	14,4±1,0	13,1±1,0*
	Число энтероцитов	23,2±1,2	34,2±2,1***	24,4±1,2	22,1±1,9
	Доля бокаловидных клеток, %	15,0±1,0	18,1±1,1*	23,8±2,2***	16,1±1,4

Различия по сравнению с контролем значимы: * при $P<0,05$; ** при $P<0,01$; *** при $P<0,001$.

роцитов. Их число снижается на 5%, а высота — уменьшается на 12%. Глубина крипт остается увеличенной на 6%, сохраняется повышенное на 8% содержание бокаловидных клеток (см. таблицу).

При исследовании ЩФ в тощей кишке выявляется ее высокая активность в энтероцитах, расположенных на вершине ворсинок, в то же время в клетках, расположенных у их основания, активность фермента снижена на 26%. Через 2 мес алкоголизации животных активность фермента в энтероцитах, расположенных на вершине ворсинок, уменьшается на 17%, а в клетках, находящихся у их основания, — на 3% по сравнению с показателями в группе контроля. Через 4 мес наблюдается более выраженное снижение активности ЩФ — так в энтероцитах на вершине ворсинок — на 25%, у их основания — на 15%. Через 6 мес тенденция к снижению сохраняется соответственно на 30 и 22% (см. таблицу).

Обсуждение полученных данных. В проведенном исследовании выявлены морфофункциональные изменения в тощей кишке при хронической алкогольной интоксикации. Из данных литературы известно, что этанол является одним из факторов, индуцирующих активность процесса апоптоза [4, 19, 20]. Данный процесс вызывает компенсаторную реакцию организма в виде повышения пролиферации энтероцитов [3]. У крыс, получавших алкоголь в течение 2 мес, в энтероцитах кишечных крипт тощей кишки усиливается митотическая активность, которая проявляется гипертрофией слизистой оболочки. Эти изменения, обнаруженные в начальном отделе тонкой кишки при алкоголизации, согласуются с клиническими наблюдениями, указывающими на возникновение неатрофического гастрита с гиперплазией слизистой оболочки желудка у больных алкоголизмом [5, 8, 10]. Экспериментальные исследования также подтверждают наличие гипертрофии слизистой оболочки кишечника, которая возникает в начале хронической алкогольной интоксикации [14].

Усиление митотической активности сочетается с активацией процесса дифференцировки клеток эпителия слизистой оболочки. Об этом свидетельствует увеличение числа бокаловидных клеток. В эпителии ворсинок тощей кишки встречаются многочисленные бокаловидные клетки, которые усиленно выделяют слизь и, тем самым, предохраняют эпителий от механических и химических повреждений. Вероятно, это является защитной ответной реакцией кишечника на воздействие этанола.

Морфологические проявления нарушений слизистой оболочки тощей кишки при алкогольной

интоксикации сочетаются с изменением активности ЩФ, которая локализована в основном в щеточной каемке эпителиоцитов [13]. Фермент обеспечивает отщепление фосфорной кислоты и, тем самым, участвует в трансмембранном переносе органических веществ в системе «энтероцит — капилляр» [6, 13]. Так, по нашим наблюдениям, в начальный срок алкоголизации крыс (2 мес) в энтероцитах происходит угнетение активности ЩФ. Снижение ферментативной активности, видимо, компенсируется повышением регенераторных возможностей. Данные результаты полностью согласуются со сведениями об угнетении в кишечнике трансмембранного фермента ЩФ при этаноловой интоксикации [15, 17]. Некоторые авторы связывают ингибирование фермента с активной пролиферацией энтероцитов и их незрелостью [18].

Морфологические изменения слизистой оболочки начального отдела кишечника при более длительном употреблении этанола — в течение 4 и 6 мес характеризуются тем, что в крипах наступает угнетение митотической активности энтероцитов, которое сопровождается гипотрофией и деформацией ворсинок. Эти данные согласуются со сведениями о развивающихся атрофических изменениях слизистой оболочки кишечника при алкогольном воздействии [2, 9]. При длительной 6-месячной алкоголизации выявлено максимальное уменьшение активности ЩФ в кишечных эпителиоцитах. На ее снижение в зависимости от срока алкогольного воздействия указывают и другие авторы [16, 21].

Таким образом, защитная функция слизистой оболочки тощей кишки в эксперименте с алкогольной интоксикацией проявляется взаимодействием морфоэнзимологических механизмов, включая местные защитно-регуляторные процессы с увеличением числа бокаловидных клеток, а также изменениями слизистой оболочки, характер которых зависит от сроков наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агеев А. К. Гистохимия кислой и щелочной фосфатаз человека в норме и патологии. Л., Медицина, 1969.
2. Бегалиева А. М. и Федорова Н. Н. Изменение эпителия слизистой оболочки кишечника белых мышей под влиянием этанола. Вестн. Астраханск. гос. техн. ун-та, 2010, № 1, с. 61–62.
3. Бондаренко О. Ю., Коган Е. А. и Склянская О. А. Апоптоз и пролиферация эпителиоцитов при *Helicobacter pylori*-ассоциированном гастрите. Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол., 2003, т. 13, № 6, с. 27–32.
4. Карзанова Е. Г. Апоптоз иммунокомпетентных клеток у больных алкоголизмом в процессе терапии. Акт. вопр. экспер. биол. и мед., 2003, т. 123, № 4, с. 391–400.
5. Козлова И. В. и Сущенко М. А. Клинико-морфологические особенности патологии гастродуоденальной зоны при алко-

- гольной болезни печени. Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. колопроктол., 2010, т. 20, № 5, с. 33–38.
6. Кушак Р. И. Пищеварительно-транспортная система энтероцитов. Рига, Зинатне, 1983.
7. Лойда З., Госспрау Р. и Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы. М., Мир, 1982.
8. Нагорный В. Л. Поражения гастродуоденальной системы при алкогольной болезни у мужчин молодого возраста: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Уфа, 2006.
9. Пулева Г. Н., Крутилова А. А. и Сентюрова Л. Г. Морфофункциональная характеристика тонкой кишки в условиях экспериментальной алкогольной интоксикации. Морфология, 2009, т. 136, вып. 4, с. 118–119.
10. Сущенко М. А. Клинические и лабораторно-инструментальные критерии патологии гастродуоденальной зоны при алкогольной болезни: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 2009.
11. Тельцов Л. П., Романова Т. А. и Столяров В. А. Динамика активности щелочной фосфатазы в энтероцитах слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки в эмбриогенезе. Морфол. ведомости, 2008, № 1, с. 197–200.
12. Уголев А. М. Мембранный гидролиз и транспорт. Новые данные и гипотезы. Л., Наука, 1986.
13. Шлыгин Г. К. Секреторная деятельность тонкого кишечника. В кн.: Физиология пищеварения. Л., Наука, 1974, с. 453–474.
14. Яковлева Л. М. и Любовцева Л. А. Морфофункциональные изменения подвздошной кишки крыс при интоксикации этанолом. Морфология, 2012, т. 141, вып. 1, с. 62–66.
15. Bansal D., Sodhi C. P., Mahmood S. and Mahmood A. Effect of chronic ethanol feeding on intestinal alkaline phosphatase activity in rats. Indian J. Med Res., 1998, v. 107, p. 118–122.
16. Eloy R., Battinger F., Bignon J. Y. et al. Intestinal brush border enzymes and chronic alcohol ingestion. Res. Exp. Med., 1979, v. 175, № 3, p. 257–269.
17. Hufnagel H., Bode C., Bode J. C. and Lehmann F. G. Damage of rat small intestine induced by ethanol. Effect of ethanol on fecal excretion of intestinal alkaline phosphatase. Res. Exp. Med., 1980, v. 178, № 1, p. 65–70.
18. Oliveira J. A., Bráulio V. B., Santos G. C. et al. Ileum brush border alkaline phosphatase activity in an experimental model of chronic alcoholism after small bowel proximal resection in the rat. Cell Mol. Biol. 1995, v. 41, № 2, p. 227–232.
19. Katz G. G., Shear N. H., Malkiewicz I. M., Valentino K., Neuman M. G. Signaling for ethanol-induced apoptosis and repair in vitro. Clin. Biochem., 2001, v. 34, № 3, p. 219–227.
20. Szabo I. and Tarnawski A. S. Apoptosis in the gastric mucosa: molecular mechanism, basic and clinic implications. J. Physiol. Pharmacol., 2000, v. 51, № 1, p. 3–15.
21. Zucoloto S., Bráulio V. B., Santos G. C. et al. Effect of chronic ethanol consumption on the activities of residual small bowel brush-border enzymes after proximal jejunum resection in the rat. Alcoholism, 1996, v. 20, № 1, p. 152–155.

Поступила в редакцию 15.12.2011
Получена после доработки 29.12.2011

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF RAT JEJUNUM AFTER LONG-TERM EXPOSURE TO ALCOHOL

L. M. Yakovleva

Histological, morphometric and histochemical analysis of the mucous membrane of the jejunum was performed in 40 adult male rats after alcohol intoxication of 2, 4 and 6 month duration. It was shown that alcohol intoxication for 2 months resulted in mucosal hypertrophy of the jejunum with a significant increase in the number of goblet cells. After 4 months, there was a tendency for the inhibition of the mitotic activity of enterocytes with the decrease of their regeneration activity. Atrophy of the mucous membrane was aggravated by the 6th month. Morphological changes in the mucous membrane were associated with the inhibition of alkaline phosphatase activity in the enterocytes. Most pronounced decrease in the activity of the enzyme was detected in the cells located at the top of intestinal villi. Maximal enzyme activity inhibition was observed after 6 months.

Key words: *jejunum, enterocytes, goblet cells, alkaline phosphatase, alcohol*

Department of General and Clinical Pathology with a Course of Forensic Medicine, I. N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary