

© Коллектив авторов, 2009
УДК 611.34:612.391:599.323.4

В.Ф. Иванова, А.А. Пузырев, С.В. Костюкевич и Р.В. Драй

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СТЕНКЕ КИШКИ КРЫС ПРИ ГОЛОДАНИИ

Отдел медико-биологических исследований (зав. — д-р мед. наук В.Ф. Иванова) Центральной научно-исследовательской лаборатории и кафедры медицинской биологии (зав. — проф. С.В. Костюкевич) Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова

Целью исследования было изучение влияния голодания на строение всех оболочек стенки двенадцатиперстной и прямой кишки. Работа выполнена на 20 беспородных белых крысах, 4 из них служили контролем. Животные голодали при сохранении питьевого режима. Материал изучали на 3-и и 6-е сутки голодания с использованием метода электронной микроскопии. Выявлены изменения в строении слизистой оболочки, подслизистой основы, мышечной и серозной оболочек кишки. Структурные нарушения во всех оболочках имели сходный характер и различались только степенью их выраженности. Наибольшие изменения отмечены во всех типах клеток (всасывающие, бокаловидные, эндокринные) эпителия слизистой оболочки обоих отделов кишки: уплощение эпителия, редукция и деформация микроворсинок, нарушение слизеобразования, деструктивные изменения в митохондриях — набухание, редукция крист, образование вакуолей и миелоноподобных структур, разрыв обеих мембран митохондрий.

Ключевые слова: *кишка, ультраструктура, голодание, крыса.*

Использование голодания, как модели структурно-функционального напряжения основных систем организма млекопитающих, получило широкое распространение в различных исследованиях [2, 10, 12]. В опубликованных работах приведены данные о структурных изменениях лишь определенного типа клеток пищеварительного тракта [6, 7], в то время как исследования, рассматривающие нарушения всей клеточной совокупности эпителия слизистой оболочки кишечника, отсутствуют. Нет данных и об одновременной реакции на голодание в эпителии и во всех оболочках пищеварительной трубки.

Цель настоящей работы — изучение влияния голодания на строение оболочек стенки двенадцатиперстной и прямой кишки белых крыс.

Материал и методы. Изучали строение стенки конечного отдела двенадцатиперстной кишки, где нет дуоденальных желез, а также начальный отдел прямой кишки 20 белых крыс-самцов массой 150–170 г, которые голодали при сохранении питьевого режима в течение 6 сут. Исследование проведено в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Материал для изучения брали на 3-и и 6-е сутки голодания. Контролем служили интактные животные (n=4). Материал фиксировали в 2,5% глутаральдегиде с последующей дофиксацией 1% раствором четырехоксида осмия и заливали в аралдит М. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB-III (Prodacter AB, Швеция), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM-100S (Jeol, Япония).

Результаты исследования. Исследование строения стенки двенадцатиперстной и прямой кишки (слизистая оболочка, подслизистая основа, мышечная и серозная оболочки) крысы после голодания выявило нарушения во всех образующих ее тканях.

В эпителии слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки через 3 сут голодания изменения имеют место в основных типах образующих его дифференцированных клеток: призматических (всасывающих), бокаловидных, и эндокрино- и экзокриноцитах с ацидофильной зернистостью (клетках Понета). Плазмолеммы и межклеточные соединения — без видимых изменений. На апикальной поверхности призматических клеток микроворсинки имеют различную длину и неравномерное расположение. Местами они отсутствуют. В некоторых ядрах наблюдается увеличение размера ядрышек и небольшое расширение перинуклеарного пространства. Всасывающие клетки различаются по строению и содержанию органелл. В отдельных эпителиоцитах увеличено содержание митохондрий и полисом на фоне редукции гранулярной эндоплазматической сети (рис. 1, а). Митохондрии располагаются в основном в апикальной части клеток и находятся в состоянии набухания, выраженного в различной степени, их кристы укорочены и дезориентированы. Немногочисленные каналцы гранулярной эндоплазматической сети находятся в основном в базальной части клеток. Комплекс Гольджи, расположенный вблизи ядра, занимает небольшие участки цитоплазмы и представлен узкими цистернами и единичными мелкими пузырьками.

Одни из бокаловидных клеток заполнены слизистым секретом, в других — секрет отсутствует, а бокал выглядит оптически пустым. Митохондрии находятся в состоянии набухания (см. рис. 1, а). Цистерны гранулярной эндоплазматической сети местами расширены и заполнены секреторным материалом.

В различных типах эндокринных клеток изменения имеют сходный характер и отличаются

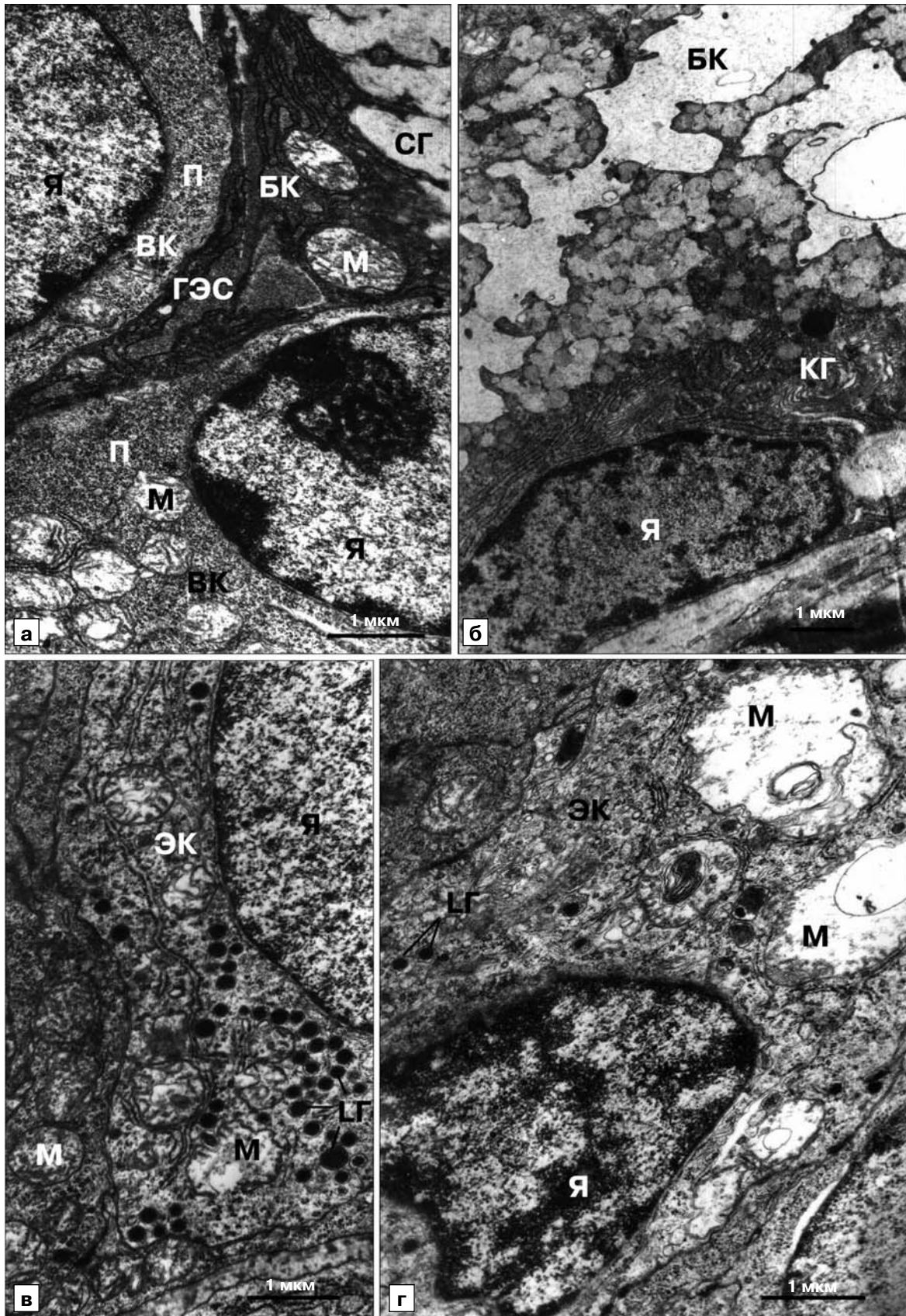


Рис. 1. Эпителий слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки крысы после 3 (а, в) и 6 сут голодания (б, г).

ВК — всасывающая (призматическая) клетка; БК — бокаловидная клетка; ЭК — эндокринная клетка; ПК — просвет крипты; Я — ядро; СГ — слизистая гранула; М — митохондрия; ГЭС — гранулярная эндоплазматическая сеть; П — полисомы; ЛГ — L гранула; КГ — комплекс Гольджи.

лишь степенью выраженности. Ядра — без видимых нарушений. В цитоплазме некоторых клеток наблюдается снижение содержания инкреторных гранул и различной степени выраженности набухание митохондрий. В некоторых митохондриях видны вакуоли, миелиноподобные структуры и наблюдается уменьшение количества укороченных крист (см. рис. 1, в). Изменения в клетках Панета сходны с таковыми в эндокриноцитах, однако, из-за редкой их встречаемости проследить динамику структурных изменений не удалось.

На 6-е сутки голодания в эпителии слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки изменения выражены значительно. В криптах местами наблюдается уплощение клеток, они становятся кубическими. В цитоплазме апикальной части некоторых призматических клеток имеет место накопление слизистых гранул (рис. 2, б), такие клетки нередко располагаются группами.

В митохондриях явления набухания более выражены, чем при 3-суточном голодании, и в значительной части из них встречаются деструктивные изменения в виде вакуолей и миелиноподобных структур. Сравнительно часто в митохондриях имеет место разрушение наружной мембраны. В бокаловидных клетках структурные изменения сходны с таковыми при 3-суточном голодании, вместе с тем, большая часть из них содержат небольшое количество слизи (см. рис. 1, б). В эндокриноцитах нарушения от таковых в предыдущий срок опыта отличаются тем, что деструктивные изменения в их митохондриях выражены значительно, чем в призматических клетках (см. рис. 1, г).

В цитоплазме эпителиоцитов крипт и ворсинок чаще встречаются многочисленные полисомы. При этом в одних эпителиоцитах они преобладают над остальными органеллами, а в других — содержание полисом также увеличено, но при сохранении и равномерном распределении по клетке всех органелл. В некоторых эпителиоцитах встречаются единичные фагосомы.

В эпителии слизистой оболочки прямой кишки изменения во многом сходны с таковыми в эпителии двенадцатиперстной кишки. На 3-и сутки голодания местами в криптах наблюдаются участки, покрытые уплощенным эпителием, состоящим из клеток, имеющих кубическую форму и редуцированные микроворсинки на апикальной поверхности (см. рис. 2, а, б). Ядра в некоторых клетках — с явлениями небольшого отека и неровными контурами. В цитоплазме большая часть органелл расположены над ядром и представлены набухшими митохондриями, комплексом Гольджи, занимающим в некоторых клетках значительные участки цитоплазмы, состоящим из уплощенных цистерн, мелких пузырьков и вакуолей, а также равномерно распределенными полисомами, фагосомами и небольшими вакуолями, расположенными в апикальной части клеток, вблизи плазмолеммы.

В эпителии, кроме описанных призматических клеток, встречаются эпителиоциты, цитоплазма которых содержит многочисленные, равномерно распределенные полисомы и немногочисленные другие органеллы; набухание и деструктивные нарушения в митохондриях в этих клетках менее выражены. В эпителии прямой кишки набухание и деструкция митохондрий во всех типах клеток в этот срок опыта менее выражены, чем в эпителии двенадцатиперстной кишки. В отдельных призматических (столбчатых) клетках в апикальной части видны неправильной формы вакуоли, по структуре похожие на слизистые секреторные гранулы. Видимо, в столбчатых эпителиоцитах идет процесс образования слизистого секрета.

Большая часть бокаловидных клеток содержат небольшое количество секрета, некоторые из них в бокаловидно расширенной апикальной части, выглядящей пустой, имеют единичные слизистые гранулы. В базальной части бокаловидных клеток содержатся слегка набухшие митохондрии. В эндокриноцитах снижено содержание секреторных гранул, ядра — с явлениями небольшого набухания. В цитоплазме наибольшие нарушения имеются в митохондриях в виде их набухания и фрагментации крист.

На 6-е сутки голодания описанные структурные изменения в эпителии слизистой оболочки прямой кишки нарастают. Строение столбчатых клеток отчетливо отличается от такового на 3-и сутки голодания. В одних клетках в апикальных участках цитоплазмы видны многочисленные неправильной формы вакуолеподобные образования, похожие на слизистые гранулы, в других — наблюдается нарастание в цитоплазме деструктивных изменений (появляются многочисленные миелиноподобные структуры, фагосомы). В составе эпителия значительно увеличивается содержание клеток, в цитоплазме которых видны многочисленные полисомы при снижении содержания других органелл и уменьшении изменений в митохондриях (см. рис. 2, в). В эпителиоцитах прямой кишки деструктивные изменения и набухание митохондрий выражены меньше, чем в эпителиоцитах двенадцатиперстной кишки. Реже встречаются митохондрии с разрушенной наружной мембраной. В бокаловидных клетках наблюдается снижение содержания слизи и набухание митохондрий. В эндокриноцитах, как и в предыдущий срок, отмечается уменьшение количества секреторных гранул, отчетливо выраженные изменения в митохондриях и увеличение содержания в цитоплазме полисом (см. рис. 2, г).

Изменения в строении собственной пластинки слизистой оболочки, в подслизистой основе, мышечной и в серозной оболочках на протяжении опыта сходны как в стенке двенадцатиперстной, так и в прямой кишке, и различаются только тем, что на 6-е сутки они более выражены.

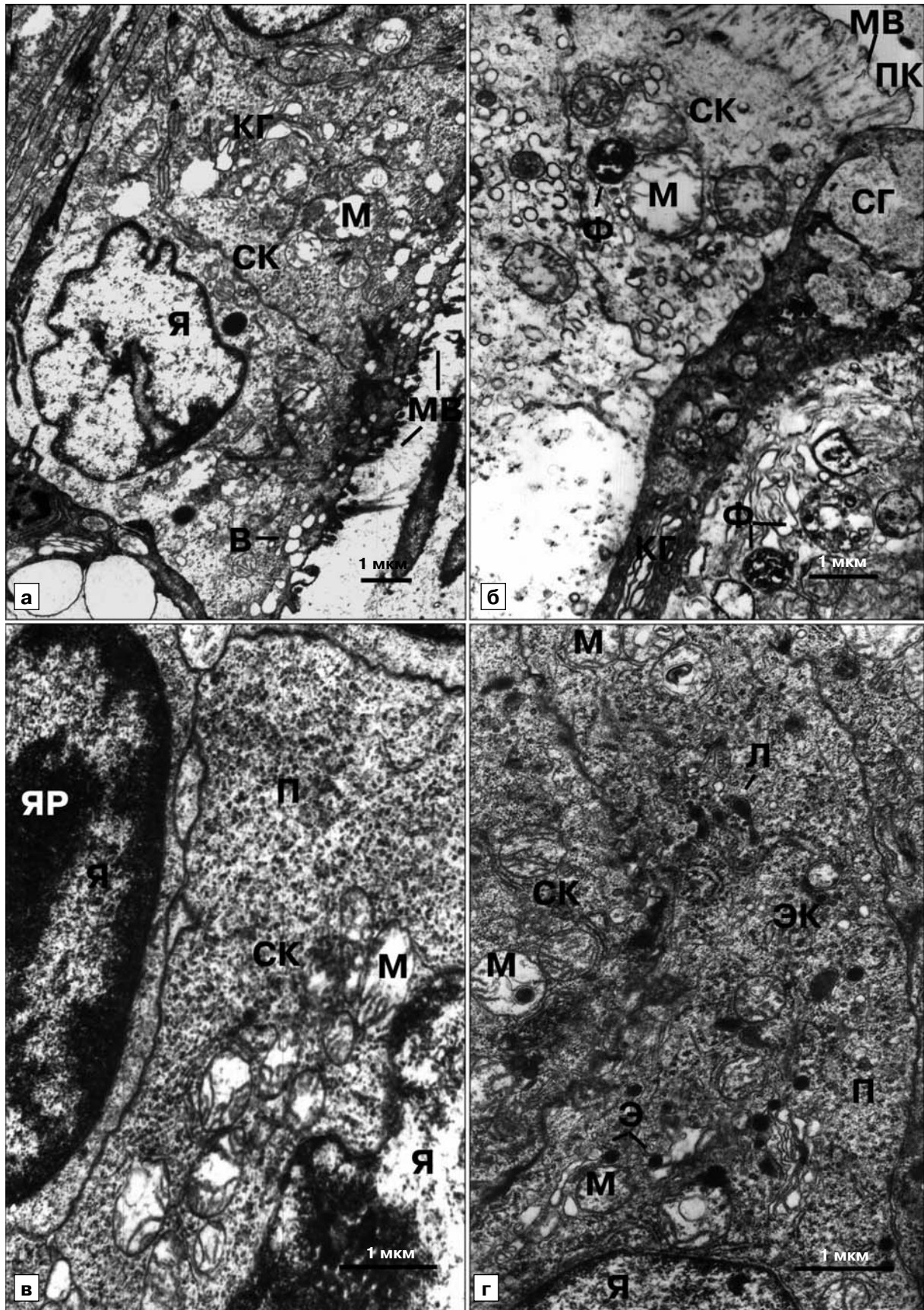


Рис. 2. Эпителий слизистой оболочки прямой кишки крысы после 3 (а, б) и 6 (в, г) сут голодания.

СК — столбчатая клетка; MB — микроворсинки; Ф — фагосома; В — вакуоль; ЯР — ядрышко; Л — лизосома. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

В собственной пластинке слизистой оболочки и в подслизистой основе довольно часто встречаются активированные плазматические клетки с вакуолярно расширенными канальцами гранулярной эндоплазматической сети, заполненными мелкогранулированным материалом невысокой электронной плотности, тучные клетки и лимфоциты. В ядрах единичных лимфоцитов и плазматических клеток наблюдается локальный лизис хроматина вблизи ядерной оболочки.

Просвет большинства кровеносных капилляров заполнен эритроцитами и единичными лимфоцитами, которые плотно прилежат к апикальной поверхности поврежденных эндотелиоцитов. Эндотелий в одних капиллярах без видимых структурных изменений, в других — в эндотелиоцитах наблюдаются изменения в строении ядер и цитоплазмы. Их ядра и цитоплазма выглядят отечными, а органеллы расположены рыхло и имеют нечеткие контуры (рис. 3, б). В эндотелиоцитах некоторых капилляров (см. рис. 3, а) органеллы равномерно распределены по цитоплазме и при этом наиболее изменены митохондрии (набухание и деструкция внутренних структур).

В гладких миоцитах мышечной оболочки изменения в основном затрагивают митохондрии и имеют тот же характер, что и в других тканях (набухание и деструкция). Нарушений остальных структур цитоплазмы (миофиламентов и других органелл) не выявлено (см. рис. 3). Только в цитоплазме единичных гладких миоцитов встречаются участки некроза.

В безмиелиновых нервных волокнах, встречающихся в мышечной и серозной оболочках, также наблюдаются изменения (см. рис. 3, г). Они имеют место в шванновских клетках и в некоторых аксонах. В шванновских клетках в основном изменены митохондрии (набухание и деструкция). Большая часть аксонов в составе нерва — без видимых нарушений и только в некоторых из них видны набухшие митохондрии и деструкция внутренней структуры аксона.

В отдельных участках серозной оболочки наблюдаются отек соединительной ткани и частичное отслоение мезотелиальных клеток от базальной мембраны. В мезотелиальных клетках ядра причудливой формы с расширенным перинуклеарным пространством, а в цитоплазме видны митохондрии с изменениями, такими же как в других клетках, описанных выше тканей.

Обсуждение полученных данных. При голодании наиболее выраженные структурные нарушения в изученных отделах кишки обнаружены в эпителиоцитах слизистой оболочки. Эти изменения наблюдались во всех типах эпителиоцитов. Вследствие этого резорбция питательных веществ и регуляция местного гомеостаза были нарушены. Уменьшение числа микроворсинок на апикальной поверхности эпителиоцитов

и их деформация свидетельствуют о нарушении пристеночного пищеварения. Эти данные согласуются с результатами, полученными D. Botsios и соавт. [9], и расходятся с данными, приведенными в работах А.А. Waheed и P.D. Gupta [15], которые обнаружили при голодании увеличение суммарной поверхности микроворсинок эпителиоцитов тонкой кишки, и M. Sohma [14], не выявившим никаких изменений в ультраструктуре апикальной поверхности всасывающих клеток, в то время как изменения других органелл, описанные автором, были близки к выявленным в наших опытах.

Данное исследование показало, что деструктивные изменения развивались в тканях постепенно и были наиболее выражены на 6-е сутки голодания. Значительные нарушения претерпевала и защитная функция эпителия — продукция слизи бокаловидными клетками была резко снижена. Частично это компенсировалось образованием слизи в цитоплазме всасывающих клеток двенадцатиперстной и прямой кишки. Этот процесс отражает, по-видимому, передифференцировку некоторых призматических клеток, которые в значительной степени утрачивали свою основную функцию — всасывание.

Наблюдаемое в криптах двенадцатиперстной и прямой кишки уплощение эпителиоцитов затрагивает не только отдельные клетки, но и значительные участки эпителия, что, по-видимому, является следствием нарушения пролиферации и миграции клеток по оси «крипта—ворсинка» и связано с дифференцировкой эпителиального пласта в целом. Замедление миграции клеток и уменьшение числа фигур митоза в криптах было отмечено С. Nabold и соавт. [11]. Снижение параметров клеточного восстановления сочетается с интенсификацией процессов внутриклеточной регенерации, на что указывает присутствие в эпителии двенадцатиперстной и прямой кишки многочисленных клеток с резко увеличенным содержанием в цитоплазме полисом на фоне снижения числа других органелл.

В морфологических реакциях на голодание принимает участие и иммунная система, что выражается в возрастании содержания в собственной пластинке слизистой оболочки и в подслизистой основе лимфоцитов и активированных плазматических клеток.

Эндокринный аппарат эпителия двенадцатиперстной и прямой кишки, который принято рассматривать как структурное звено, координирующее различные стороны процессов пищеварения и местного гомеостаза [8], также претерпевает изменения. Дегрануляция цитоплазмы эндокриноцитов свидетельствует об их активной секреции. Ранее другими исследователями было показано возрастание количества эндокриноцитов в составе эпителия желудка и двенадцатиперстной кишки за счет увеличения содержания серотонинпродуцирующих ЕС-клеток [6, 7], функционально

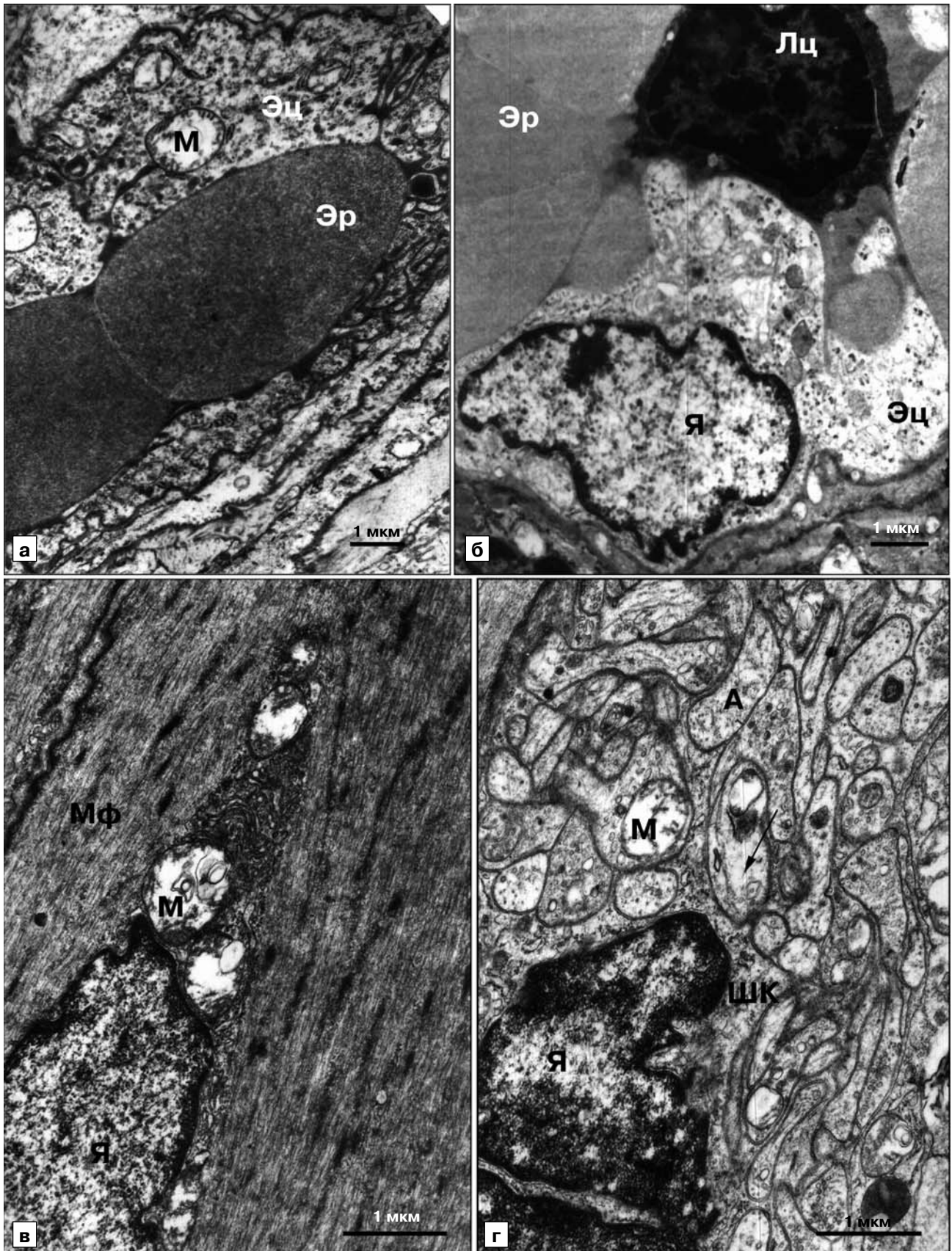


Рис. 3. Капилляры (а, б), гладкий миоцит (в) и безмиелиновый нерв (г) кишки крысы на 3-и (а) и 6-е (б-г) сутки голодания. Эр — эритроцит; Лц — лимфоцит; Эц — эндотелиоцит; Мф — миофиламенты; ШК — шванновская клетка; А — аксон. Стрелка — дегенеративно-измененный аксон. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

связанных с секрецией гастрина и инсулина. В наших опытах в эндокриноцитах различного гормонального профиля внутриклеточные изменения были сходными, что отражает системный уровень их морфофункциональной организации (эндокринная гастроэнтеропанкреатическая система). Учитывая двойное распределение ряда гормонов и биогенных аминов (холицистокинин, энкефалин, соматостатин, серотонин, нейропептид W и др.) в структурах мозга и эндокриноцитах эпителия пищеварительного тракта, правомерно предположить, что голодание сказывается и на состоянии функциональной оси «мозг — пищеварительный тракт» [13].

Особого внимания при изучении воздействия голодания заслуживают изменения в строении митохондриальных мембран, которые определяют степень «поломки» в клетках энергезависимых метаболических процессов, что сопровождается развитием гликолиза [5]. Деструктивные изменения в митохондриях нарастали к 6-м суткам, когда наблюдалось разрушение внутренней и наружной мембран и появление многочисленных миелоидоподобных структур. Такие нарушения рассматриваются как переход обратимой стадии дистрофических изменений в необратимую [1]. Изменения строения митохондрий являются первичным звеном в механизме реакции клеток к действию эндо- и экзогенных факторов [3, 4]. В данном исследовании изменения в митохондриях были выявлены во всех клетках изученных тканей, образующих стенку двенадцатиперстной и прямой кишки. Из других клеточных органелл следует отметить нарушения в гранулярной эндоплазматической сети. Ее цистерны были фрагментированы и частично редуцированы, что приводило к нарушению не только синтеза белков в клетках, но и функционирования единой внутриклеточной транспортной системы.

Оценивая в совокупности полученные данные, можно сделать вывод, что голодание, являющееся для организма сильной стрессовой реакцией, проявляется в пищеварительном тракте рядом структурно-функциональных изменений, которые характеризуются сочетанием как деструктивных, так и, частично, внутриклеточных регенераторных процессов.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Авцын А.П. и Шахламов В.А. Ультраструктурные основы патологии клетки. М., Медицина, 1979.
2. Веснина И.А. Дифференцировка и цитогенез эндокринных клеток поджелудочной железы белой крысы в условиях длительного голодания. Морфология, 2001, т. 120, вып. 6, с. 43–47.
3. Иванова В.Ф., Маймулов В.Г., Пузырев А.А. и др. Клеточный уровень адаптации организма к воздействию окружающей среды крупного промышленного города (Санкт-Петербург). Морфология, 2001, т. 119, вып. 1, с. 8–14.
4. Меерсон Ф.З. Общий механизм адаптации и роль в нем стресс-реакции, основные стадии процесса. II. Физиология адаптационных процессов. М., Наука, 1986.
5. Пузырев А.А., Иванова В.Ф. и Маймулов В.Г. Адаптация организма к действию экологических факторов на клеточном и субклеточном уровнях. Морфология, 1997, т. 112, вып. 4, с. 23–28.
6. Россолько Г.Н. и Иванова В.Ф. Строение и цитофизиология эндокриноцитов эпителия желудка при нарушении пищевого режима. Морфология, 1993, т. 105, вып. 11–12, с. 96–105.
7. Соболева М.В. Морфофункциональные изменения ЕС-клеток двенадцатиперстной кишки белой крысы при голодании. Морфология, 1995, т. 108, вып. 1, с. 69–70.
8. Уголев А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Л., Наука, 1985.
9. Botsios D., Economou L., Manthos A. et al. Ultrastructural alterations of the rat intestinal epithelium fed with polymeric, oligopeptidic or elementary full diet, following starvation. *Histol. Histopatol.*, 1993, v. 8, № 3, p. 527–535.
10. Dou J., Gregersen S., Zhao J. et al. Morphometric and biomechanical intestinal remodeling by fasting in rats. *Dig. Dis. Sci.* 2002, v. 47, № 5, p. 1158–1168.
11. Habold C., Chevalier C., Dunel-Erb S. et al. Effects of fasting and refeeding on jejunal morphology and cellular active in rats in relation to depletion of body. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2004, v. 39, № 6, p. 531–539.
12. Hernandez G., Velasco N., Wainstein C. et al. Gut mucosal atrophy after a short enteral fasting period in critically ill patients. *J. Crit. Care*, 1999, v. 14, № 2, p. 73–77.
13. Riediger T., Zuend D., Becskei C. et al. The anorectic hormone amylin contributes to feeding-related changes of neuronal activity in key structures of the gut-brain axis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2004, v. 286, № 1, p. 114–122.
14. Sohma M. Ultrastructure of the absorptive cells in the small intestine of the rat during starvation. *Anat. Embryol. (Berl.)*, 1983, v. 168, p. 331–339.
15. Waheed A.A. and Gupta P.D. Changes in structural and functional properties of rat intestinal brush border membrane during starvation. *Life Sci.*, 1997, v. 61, p. 2425–2433.

Поступила в редакцию 06.06.09

STRUCTURAL CHANGES IN RAT INTESTINAL WALL DURING STARVATION

V.F. Ivanova, A.A. Puzryov, S.V. Kostiukevitch and R.V. Drai

The aim of this study was to determine the effect of starvation on all the tunics of duodenum and rectum wall. The animals were 20 outbred albino rats; the control group comprised 4 animals.

The animals were starved while the drinking regime remained unchanged. Material was obtained at days 3 and 6 of starvation and was studied using electron microscopy. The changes were detected in the structure of mucosa, submucosa, tunica muscularis and serosa. These structural changes were of similar nature in all the tunics and differed only by the degree of their severity. The most pronounced changes were observed in all the epithelial cell types (absorbing, goblet and endocrine) in both parts of the intestine. These included cell flattening, microvilli reduction and deformation, mucus production disturbances, destructive changes in the mitochondria (swelling, cristae reduction, vacuoles and myelin-like structures formation, disruption of both mitochondrial membranes).

Key words: *intestine, ultrastructure, starvation, rat.*

Department of Medico-Biological Research, Central Scientific Research Laboratory and Department of Medical Biology, I.I. Mechnikov State Medical Academy, St. Petersburg.