

© Коллектив авторов, 2009
УДК 616.33-002.44-018.73-085.322

Т.К. Гаскина, В.Н. Горчаков и Е.В. Мельникова

СТРОЕНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ ЯЗВЕННОМ ПРОЦЕССЕ НА ФОНЕ ПРИЕМА БИОАКТИВНОГО ФИТОСБОРА

Лаборатория функциональной морфологии лимфатической системы (зав. — проф. В.Н. Горчаков) Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, г. Новосибирск

Целью работы было экспериментальное исследование влияния биологически активного фитосбора (БАФ) на структурные компоненты слизистой оболочки желудка в периоды образования и заживления язвы, которую вызывали путем однократного внутрибрюшинного введения адреналина. Эксперименты проведены на 166 крысах-самцах линии Вистар. Фундальную часть желудка исследовали на 2-, 5-е и 10-е сутки от начала опыта. В условиях фитокоррекции дана интегративная оценка слизистой оболочки желудка с помощью статистического матричного метода. БАФ меняет темпы клеточных обновлений, что сказывается на восстановлении размерности компартментов в слизистой оболочке. В условиях приема БАФ меньше степень повреждения слизистой оболочки, а величина компартментов изначально выше на 14–15%, чем в аналогичный срок исследования без приема БАФ. Стабильно увеличено количество шеечных мукоцитов фундальных желез. Прием БАФ обеспечивает высокие показатели общего нормированного индекса для органа. Все это способствует более быстрому восстановлению целостности слизистой оболочки желудка после язвы. БАФ оказывает протективное и стимулирующее действие на структуры органа.

Ключевые слова: желудок, слизистая оболочка, язва желудка, заживление, биологически активный фитосбор.

Язвенная болезнь желудка является широко распространенным и социально значимым заболеванием. Изменения представлений о методах его предупреждения [11] предопределяют необходимость целенаправленного поиска средств, в частности, лекарственных растений, которые способствовали бы оптимизации терапии язвенного процесса в желудке. По наблюдениям ведущих фитотерапевтов, непрерывная фитопрофилактика обострений обладает высокой эффективностью [6, 9], что ставит задачу изучения влияния оригинальных фитосборов на состояние слизистой оболочки желудка (СОЖ) при ее повреждении.

Цель настоящего исследования — изучить в эксперименте влияние биологически активного фитосбора (БАФ) на структурные компоненты СОЖ в периоды образования и регенерации язвы.

Материал и методы. Эксперимент проведен на 160 белых крысах-самцах линии Wistar в соответствии с «Правилами работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г., № 755). Животных содержали в помещении вивария при свободном доступе к воде и на стандартной диете (комбикорм ПК-120-1). Формирование язв желудка вызывали путем однократного внутрибрюшинного введения адреналина в дозе 2–3 мг/кг, что дало возможность изучить стадийное развитие язвенного процесса [2]. Существование известной модели язвы желудка определило сроки исследования — 2-, 5-, 10-е сутки (не менее 20 животных на временную точку в контрольной и подопытной группе). Контролем служили интактные животные.

Для коррекции язвенного процесса использовали БАФ, в состав которого включены пшеничные отруби, хвоя пихты

сибирской, трава тысячелистника обыкновенного и семена расторопши пятнистой. Аналогом фитосбора может рассматриваться растительная биологически активная добавка к пище «Гармония-Вита» (Гармония-Вита, Россия) [свидетельство о госрегистрации № 77.99.11.3.У.2175(2176).9.04], которая является общеукрепляющим средством и средством «фоновой» терапии при дисфункциях пищеварительной системы. В эксперименте БАФ применяли в течение 2 нед до инъекции адреналина и после нее. Суточная доза БАФ составляла 0,1 г/кг.

По завершении эксперимента для гистологического исследования брали фрагмент стенки фундального отдела желудка. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине, проводили по стандартной методике и заливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилином — эозином и осуществляли морфометрическое исследование [1, 7, 12–15]. В пяти произвольных участках у всех животных каждого срока исследования определяли среднее количество клеток фундальных желез: главных, париетальных и шеечных мукоцитов на единице площади квадрата, равной 4225 мкм² поверхности среза СОЖ [12–14].

При морфометрии и характеристике СОЖ и фундальных желез использовали понятие «компартмент» применительно к желудочной ямке с покрывающим ее эпителием (компартмент покровно-ямочного эпителия, ПЯЭ) и фундальной железе (компартмент эпителия железы, ЭЖ) [7, 15]. Определяющим в выделении компартментов является разный по локализации эпителий [7]. С помощью программы Image-Pro Plus 4.1 на изображениях гистологических срезов желудка проводили измерение толщины СОЖ [расстояние от внутренней поверхности мышечной пластинки слизистой оболочки (МПСО) до верха желудочной ямки, включая поверхностный эпителий]; высоты желез (расстояние от основания желез до дна ямки, длина компартмента ЭЖ), и глубины ямок (расстояние от дна до их верха, длина компартмента ПЯЭ), а также толщины МПСО проводили у всех животных каждого срока исследования (на одном препарате

Таблица 1

Морфометрические показатели компартментов слизистой оболочки желудка в разные сроки исследования язвенного процесса на фоне приема биологически активного фитосбора (БАФ) и без него ($\bar{x} \pm s_x$)

Исследованные показатели	Контроль	Язва желудка			БАФ+язва желудка		
		2-е сутки	5-е сутки	10-е сутки	2-е сутки	5-е сутки	10-е сутки
Длина компартмента, мкм:							
ПЯЭ	17,4±0,6	12,6±0,4* (-0,80)	13,54±0,29* (-0,64)	16,9±0,4 (-0,08)	14,4±0,4* (-0,51)	15,4±0,5 (-0,33)	16,3±0,7 (-0,18)
ЭЖ	32,0±1,1	23,0±1,0* (-0,82)	27,7±0,5* (-0,39)	33,0±0,6 (0,10)	26,4±0,5*** (-0,50)	31,4±0,9** (-0,05)	32,7±0,4 (0,07)
Толщина, мкм:							
СОЖ	44,3±1,9	36,8±0,9* (-0,41)	39,6±0,8 (-0,25)	47,8±1,0 (0,18)	36,2±0,8* (-0,44)	46,1±0,7** (0,10)	43,1±1,0** (-0,07)
МПСО	2,29±0,08	2,40±0,09 (0,14)	2,70±0,07* (0,49)	2,40±0,08 (0,14)	2,09±0,08 (-0,25)	2,75±0,04* (0,58)	2,24±0,05 (-0,06)
ПЯЭ/ЭЖ	0,540±0,010	0,550±0,010 (0,10)	0,490±0,010* (-0,5)	0,510±0,010 (-0,3)	0,540±0,010 (0,01)	0,491±0,010* (-0,5)	0,50±0,011 (-0,4)
ПЯЭ/СОЖ	0,390±0,010	0,40±0,009 (0,1)	0,340±0,009* (-0,5)	0,350±0,009 (-0,4)	0,40±0,009 (0,1)	0,331±0,009* (-0,6)	0,380±0,010 (-0,1)
ЭЖ/СОЖ	0,720±0,010	0,720±0,010 (0)	0,70±0,010 (-0,2)	0,690±0,010 (-0,3)	0,730±0,010 (0,1)	0,681±0,011* (-0,4)	0,760±0,010*** (0,4)
ОНИ	—	-0,24	-0,29	-0,10	-0,21	-0,17	-0,05

Примечание. ПЯЭ — покровно-ямочный эпителий; ЭЖ — эпителий железы; СОЖ — слизистая оболочка желудка; МПСО — мышечная пластинка слизистой оболочки; ОНИ — общий нормированный индекс; в скобках указаны нормированные значения.

* Различия значимы по сравнению с контролем при $P < 0,05$.

** Различия значимы по сравнению с показателями того же срока эксперимента, но без применения БАФ, при $P < 0,05$.

не менее 30 измерений каждой структуры слизистой оболочки желудка), после чего определяли средние величины и их ошибки. Дополнительно рассчитывали показатели отношений: ПЯЭ/ЭЖ; ПЯЭ/СОЖ; ЭЖ/СОЖ.

При получении цифровых данных осуществляли их стандартизацию с помощью матричного статистического метода [4, 5]. В матричном методе использована операция «нормирование признаков» по формуле: $Np = (Xp - Xk) / Sd$, где Np — нормированное значение, Xp — действительное значение, Xk — средняя арифметическая, Sd — стандартное отклонение каждого использованного показателя. Нормированные значения стандартизируются со знаком (+) или (-) и показывают отклонение от среднего значения данного показателя в границах $\pm 1,0$. Для каждого структурно-функционального элемента органа вычисляли нормированное значение, а затем — общий нормированный индекс (ОНИ), дающий характеристику органа или системы в целом [5]. При статистической обработке результатов для оценки значимости цифровых данных использовали критерий Стьюдента. Различия считали значимыми при $P < 0,05$. Полученные данные обрабатывали с использованием компьютерных программ Image-Pro Plus 4.1 и Microsoft Excel 2003.

Результаты исследования. При приеме БАФ уменьшается степень повреждения СОЖ, вызванного введением адреналина. Язвы развиваются не всегда (рис. 1, а), чаще наблюдаются эрозии. При этом некробиотические изменения затрагивают поверхностные отделы СОЖ с дезорганизацией компартментов (см. рис. 1, б).

В строме, представленной рыхлой неоформленной соединительной тканью собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы, наблюдается усиленное кровенаполнение, гистиоцитарная инфильтрация средней степени выраженности, распространенных геморрагий не отмечено.

На 2-е сутки исследования отмечают низкие и отрицательные значения ОНИ, свидетельствующие о направленности изменений в сторону уменьшения всех компартментов СОЖ при сохранности слизистого барьера (табл. 1). Отмечено уменьшение в 1,2 раза размера компартментов ПЯЭ, ЭЖ, толщины СОЖ. Величины компартментов ПЯЭ и ЭЖ выше на 14–15%, чем в аналогичный срок исследования без приема БАФ. При этом индексы соотношений отдельных компартментов разнятся с контролем очень мало, а индекс ПЯЭ/ЭЖ по своей величине соответствует контрольному значению. ОНИ составил -0,21, что свидетельствует о трансформациях в СОЖ вне фокуса язвы в условиях приема БАФ (см. табл. 1).

В период интенсивного язвообразования на фоне приема БАФ анализ количества основных клеток СОЖ показал, что их число изменяется в пределах 10% от контрольного уровня (табл. 2). ОНИ для клеток фундальных желез желудка

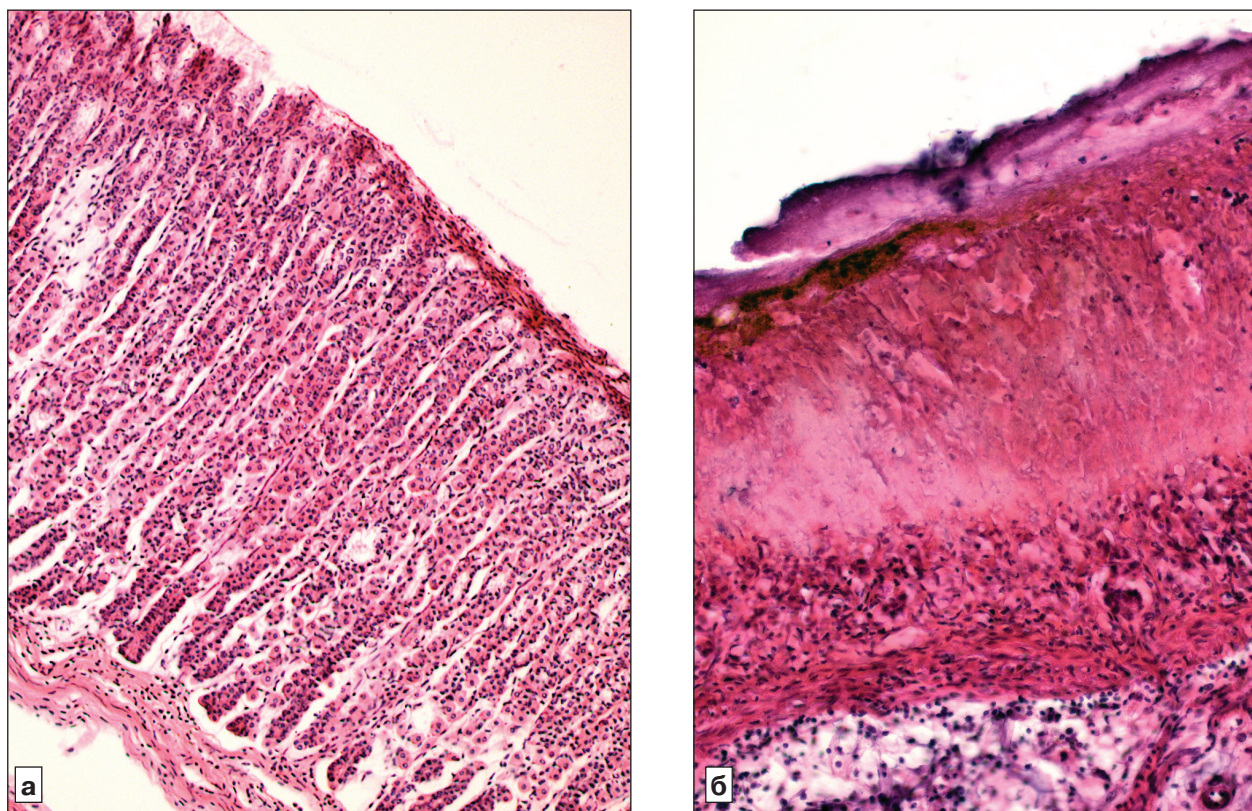


Рис. 1. Слизистая оболочка фундального отдела желудка крысы через 2 сут после введения адреналина на фоне приема фитосбора.

а — отдел с сохраненными компартментами покровно-ямочного эпителия и эпителия желез; б — некробиотические изменения слизистой оболочки желудка (эрозия) с дезорганизацией компартментов. Окраска гематоксилином — эозином. Об. 10, ок 7.

составил всего 0,03, что связано с уменьшением числа главных и париетальных клеток на фоне увеличения шейечных мукоцитов. Нормированные значения для главных и париетальных клеток имеют отрицательный знак, но они по своей величине выше, чем в аналогичный срок без приема БАФ (см. табл. 2).

В период начальной регенерации тканей в области язвы (5-е сутки) продолжение приема БАФ вызывает уменьшение ОНИ по сравнению с таковым в предыдущий срок исследования и в аналогичный срок без приема БАФ (см. табл. 1). Сохраняется уменьшение длины компартмента ПЯЭ. Размер компартмента ЭЖ достигает конт-

Таблица 2

Количество клеток фундальных желез желудка на стандартной площади среза и нормированные показатели (в скобках) в разные сроки исследования язвенного процесса на фоне приема биологически активного фитосбора (БАФ) и без него ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Исследованные показатели	Контроль	Язва желудка			БАФ+язва желудка		
		2-е сутки	5-е сутки	10-е сутки	2-е сутки	5-е сутки	10-е сутки
Количество клеток:							
главных	19,8±0,6	16,8±0,4* (-0,47)	17,6±0,3* (-0,34)	17,2±0,3* (-0,40)	17,9±0,4 (-0,29)	19,1±0,4 (-0,11)	19,3±0,5 (-0,07)
париетальных	4,83±0,23	3,72±0,27* (-0,48)	4,31±0,16 (-0,23)	4,80±0,17 (-0,01)	4,50±0,23 (-0,14)	4,17±0,23 (-0,29)	5,20±0,16 (0,16)
слизистых	14,21±0,19	15,09±0,26 (0,46)	15,20±0,22* (0,54)	14,72±0,29 (0,27)	15,22±0,24* (0,53)	14,9±0,3 (0,38)	14,4±0,3 (0,08)
ОНИ	—	-0,16	-0,01	-0,05	0,03	0,007	0,06

Примечание. ОНИ — общий нормированный индекс.

* Различия значимы по сравнению с контролем при $P < 0,05$.

рольного значения. Для 5-х суток исследования характерен очень низкий ОНИ с положительным знаком (0,007) для клеток желез СОЖ в условиях приема БАФ (см. табл. 2). Происходит выравнивание соотношения клеток и восстановление их популяции в фундальной железе желудка при приеме БАФ.

К концу исследования язвенного процесса на фоне приема БАФ отмечается восстановление размерности структур СОЖ до контрольного уровня (см. табл. 1). Об этом свидетельствуют величина нормированных значений и ОНИ. Морфометрические показатели компарментов СОЖ статистически значимо не отличаются от контроля, изменяясь в пределах до 10%. На фоне приема БАФ (10-е сутки язвенного процесса) имеет место стабилизация состава клеток фундальных желез желудка (рис. 2). ОНИ остается низким в условиях приема БАФ, но он имеет положительную величину (см. табл. 2). В то же время без приема БАФ число главных клеток фундальных желез желудка остается меньше на 14% по сравнению с контрольным показателем. В развитии язвенного процесса очевидна положительная динамика, проявляющаяся восстановлением структур СОЖ в условиях приема БАФ.

Обсуждение полученных данных. Предлагаемый фитосбор за счет различных фармакодинамических эффектов входящих в него лекарственных трав и пищевых волокон оказывает саногенетическое влияние на основные структуры СОЖ при эрозивно-язвенной патологии. Он меняет темпы обновления клеток, что сказывается на восстановлении размерности компарментов в СОЖ. Нормальное функционирование достигается сохранностью слизистого барьера [3, 8]. Стабильно увеличивается количество шеечных мукоцитов, свидетельством чего является положительная величина нормированного значения. Данная реакция является компенсаторно-адаптивной и необходимой для снижения агрессивности желудочного сока [8]. Протеолитическая активность желудочного сока не имеет самостоятельного значения в генезе язвенного процесса [10]. Ранее была показана тесная связь между массой париетальных и главных клеток у больных с язвой желудка [13], хотя результаты морфометрии СОЖ свидетельствовали о большой частоте случаев заболевания с увеличением количества главных клеток [7]. Сравнительный анализ ОНИ для СОЖ демонстрирует, что со 2-х по 10-е сутки исследования язвенного процесса выраженность морфологических изменений не нарастает, а свидетельствует о более быстрой реституции в усло-

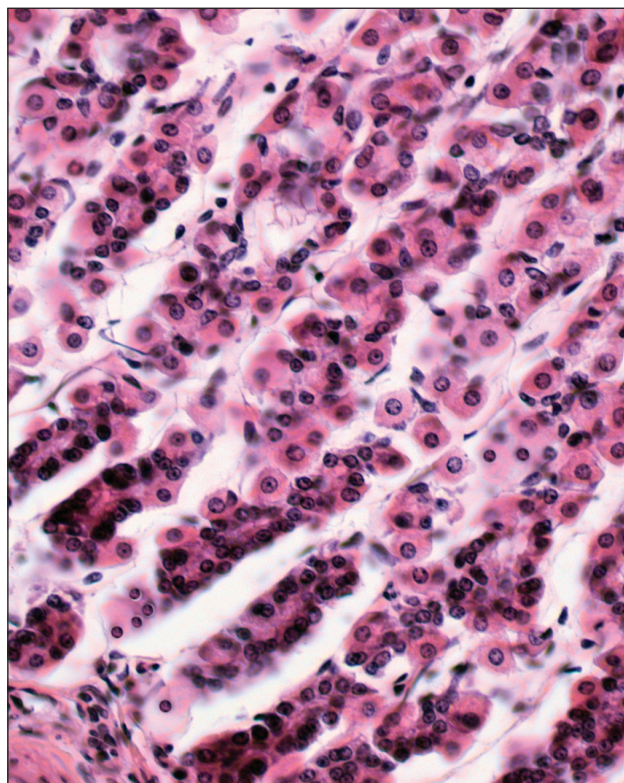


Рис. 2. Клеточный состав фундальных желез слизистой оболочки желудка крысы через 10 сут после введения адреналина на фоне приема фитосбора.

Окраска гематоксилином — эозином. Об. 20, ок. 7.

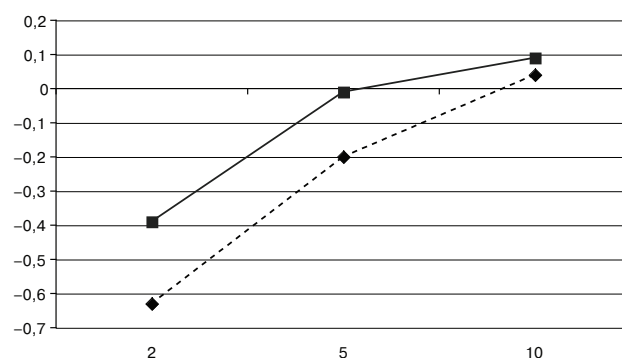


Рис. 3. Общий нормированный индекс для желудка, включая компарменты и клетки, в динамике язвенного процесса на фоне приема биологически активного фитосбора (сплошная линия) и без него (прерывистая линия).

По оси абсцисс — срок от начала эксперимента (сут); по оси ординат — исследованный параметр.

виях приема БАФ (рис. 3). Наибольшие патологические изменения происходят без приема БАФ. Прием БАФ обеспечивает защиту структурных компонентов СОЖ, приводя их к более быстрому восстановлению на качественно новом уровне в результате стабилизации баланса факторов агрессии и защиты.

Таким образом, морфологический анализ с использованием статистического матричного метода позволяет выявить высокую достоверность наблюдаемых изменений в компартментах СОЖ в условиях приема БАФ при язвенном процессе. При этом преследуется одна цель — полная реституция органа. Прием БАФ обеспечивает высокие показатели ОНИ, что является результатом возрастания эффективности протективных механизмов, необходимых для более быстрого восстановления целостности СОЖ после язвы. Можно считать, что прием БАФ является дополнительным компонентом оздоровительных технологий в профилактике, реабилитации и «фоновой» коррекции язвенного процесса в желудке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии. М., Медицина, 1984.
2. Белостоцкий Н.И., Амиров Н.Ш. и Астафьева О.В. Изменение гормональной регуляции при экспериментальной аденолиновой язве желудка. Экспер. клин. гастроэнтерол., 2002, № 5, с. 110–112.
3. Гельфанд Б.Р., Мартынов А.Н., Гурьянов В.А. и Шипилова О.С. Профилактика стресс-повреждений верхнего отдела желудочно-кишечного тракта у больных в критических состояниях. Consilium Medicum (приложение «Хирургия»), 2003, № 2, с. 16–19.
4. Земсков А.М. Перспективные подходы к оценке иммунного статуса человека. Лаб. дело, 1986, № 9, с. 544–547.
5. Златев С.П. и Димитров И.Д. Анализ и оценка иммунного статуса при помощи матричного статистического метода. Иммунология, 1991, № 2, с. 46–49.
6. Корсун В.Ф., Трескунов К.А. и Корсун Е.В. Состояние и перспективы развития фитотерапии в России. В кн.: Материалы I Международного съезда фитотерапевтов. М., Оверлей, 2006, с. 4–6.
7. Мозговой С.И. и Кононов А.В. Эрадикация *Helicobacter pylori*: возможность обратного развития атрофии слизистой оболочки желудка и персистенция воспалительного инфильтрата. Экспер. клин. гастроэнтерол., 2004, № 1, с. 101–113.
8. Могильная Г.М. и Могильная В.Л. Гастроинтестинальный защитный барьер. Морфология, 2007, т. 132, вып. 6, с. 9–16.
9. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитотермакология: Руководство для врачей. М., Медицинское информационное агентство, 2000.
10. Филимонов Р.М. Гастродуоденальная патология и проблемы восстановительного лечения. М., Медицинское информационное агентство, 2005.
11. Цуканов В.В. Профилактика язвенной болезни в России: существует ли необходимость развития? Гастроэнтерол. Санкт-Петербурга, 2004, № 2–3, с. 161–162.
12. Abercrombie M. Estimation of nuclear population from microtome sections. Anat. Rec., 1946, v. 94, № 2, p. 239–247.
13. Card W.I. The relation between the acid output of the stomach following “maximal” histamine stimulation and the parietal cell mass. Clin. Sci., 1960, v. 9, № 1, p. 147–163.
14. Cox A.J. and Barnes V.R. Experimental hyperplasia of the stomach mucosa. Proc. Soc. Exp. Biol., 1945, v. 60, № 1, p. 118–120.
15. Ruiz B. and Garay J. Morphometric evaluation of gastric antral atrophy: improvement after of *Helicobacter pylori*. Am. J. Gastroenterol., 2001, v. 96, № 12, p. 3281–3287.

Поступила в редакцию 16.05.08
Получена после доработки 05.12.08

STRUCTURE OF GASTRIC MUCOSA DURING THE ULCERATIVE PROCESS DEVELOPMENT CONCOMITANTLY WITH THE BIOACTIVE PHYTOCOMPOSITION ADMINISTRATION

T.K. Gaskina, V.N. Gorchakov and Ye.V. Mel'nikova

The present study was designed to determine experimentally the effect of a biologically active phytocomposition (BAP) on the gastric mucosa structural components during the formation and healing of ulcer induced by a single intraperitoneal injection of epinephrine. Experiments were conducted using 160 Wistar albino male rats. The fundic mucosa was studied 2, 5 and 10 days after the beginning of the experiment. The integrative assessment of a gastric mucosa was given by means of a statistical matrix method under the condition of phytocorrection. BAP was shown to change the rates of cell renewal that resulted in the restoration of the dimensions of mucosal compartments. Administration of BAP decreased the degree of mucosal damage and increased the initial size of mucosal compartments by 14–15%, as compared to those at similar time intervals in animals receiving no BAP. The number of neck mucous cells in the fundic glands was stably increased. Administration of BAP provided high parameters of the general normalization index for an organ. These changes collectively favored faster restoration of the gastric mucosa integrity after an ulcer. BAP was shown to have a protective and stimulating effect on the organ structures.

Key words: *gastric mucosa, gastric ulcer, healing, cell renewal, biologically active phytocomposition.*

Laboratory of Functional Morphology of Lymphatic System, Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology of RAMS SB, Novosibirsk.