

УДК: 612.325 : 616.36 – 008.811.5 : 618.3 – 06] – 092.9

## ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНЫХ И ЦИТОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СОБСТВЕННЫХ ЖЕЛЕЗ ЖЕЛУДКА 15-СУТОЧНЫХ КРЫСЯТ, РОДИВШИХСЯ В УСЛОВИЯХ ХОЛЕСТАЗА, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВЫЗВАННОГО В ПЕРИОД ФЕТОГЕНЕЗА

Я. Р. Малюк, Е. Ч. Михальчук

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

В эксперименте на 22 крысятах 15-суточного возраста, применив в комплексе морфофункциональные и статистические методы исследования, установлено, что подпеченочный обтурационный холестаз, экспериментально вызванный на 17-е сутки беременности крыс-самок, задерживает у родившегося потомства развитие слизистой желудка, становление в ней собственных желез, изменяет в них количественный и качественный состав экзокриноцитов. В цитоплазме последних, особенно в высокодифференцированных экзокриноцитах, уменьшается активность СДГ, НАДН-ДГ, а ЛДГ и КФ – возрастает. В поверхностно-ямочных эпителиоцитах угнетается синтез гликопротеинов, сиало- и сульфомуцинов. Снижены тинкториальные свойства цитоплазмы экзокриноцитов, при увеличенном содержании в ней РНП, что свидетельствует о низкой степени их дифференцировки.

**Ключевые слова:** беременность, холестаз, потомство, желудок.

Using the complex of morpho-functional and statistical methods in the experiment on 22 rat pups (aged 15 days) it was established that the subhepatic obturational cholestasis experimentally induced in female rats on the 17<sup>th</sup> day of pregnancy slowed in the litter the mucosal development of the stomach and the formation of the intrinsic glands, and in addition changed the qualitative and quantitative exocrinocyte composition in them. The exocrinocyte cytoplasmic activity of succinate dehydrogenase and NADH dehydrogenase fell down and that of lactate dehydrogenase and acid phosphatase rose, especially in highly differentiated cells. The epitheliocytes of surface concavity had the low synthesis of glycoproteins, sialomucins and sulfomucins. The tinctorial properties of exocrinocytic cytoplasm were decreased and its RNP content increased, indicating their weak differentiation.

**Key words:** pregnancy, cholestasis, litter, stomach.

### Аналитический обзор

Холестаз беременных впервые отмечен врачом Ф. Алфелдом в 1883г. Однако лишь в 1954 году шведы А. Свенборг и Л. Торлинг начали подробно изучать этиологию, патогенез и клинические симптомы этой патологии [12]. Для нее характерны зуд, нарушение всасывания в кишечнике витаминов А, Д, Е, К, кальция, увеличение в крови активности печеночной фракции щелочной фосфатазы, g-глутамилтранспептидазы, содержания общего холестерина, билирубина и особенно конъюгированных желчных кислот [9, 10, 11]. Последние, благодаря высокой мобильной способности встраиваться в липидный комплекс мембран, могут привести к изменению их текучести, активности в них Na/K-АТФ-азы, течения мембранных процессов и функций клеток в целом [1]. Установлено, что при нарушении энтерогепатической циркуляции во взрослом организме нарушаются процессы перекисного окисления липидов [7, 9, 16], развиваются в большинстве паренхиматозных органах выраженные структурные изменения [4, 5, 13]. Характер изменений, происходящих в органах потомства, родившегося от матерей с заболеваниями печени, осложненных холестазом, мало изучен [2, 6]. Показано, что сам холестаз для беременных серьёзной угрозы не представляет, но оказывает отрицательное воздействие на плод [11, 14, 15], вызывает преждевременные роды, летальный исход новорожден-

ных, достигающий, по данным разных авторов, от 4 до 40 % [3, 15]. Установлено, что холестаз, вызванный на 12-е сутки беременности, задерживает у 15-суточного потомства не только прирост массы тела, физическое развитие, но и тормозит развитие его органов. Однако при этом не установлено – имеется ли взаимосвязь вышеуказанных изменений от сроков развития у беременных холестатического состояния.

Учитывая вышеизложенное, научную и практическую значимость затронутого вопроса, была поставлена цель – изучить у 15-суточного потомства, родившегося в условиях холестаза, экспериментально вызванного в период фетогенеза, особенности строения слизистой желудка и ее собственных желез, количественные, структурные и цитохимические свойства их экзокриноцитов. Реализация поставленной цели возможна лишь в эксперименте с фиксированными сроками беременности.

### Материалы и методы

Эксперимент проведён на 22 крысятах 15-суточного возраста. Двенадцать из них родились от самок, которым на 17-е сутки беременности, т.е. в период активного фетогенеза, экспериментально вызывали подпеченочный обтурационный холестаз. Десять крысят, родившихся от самок, которым производилась лишь лапаротомия, без наложения

лигатуры на верхнюю часть общего желчного протока, служили контролем. Всего в опыте задействована 21 беременная самка. Последние, как и родившиеся от них опытные и контрольные крысы, находились под тщательным наблюдением и в одинаковых условиях вивария. На 15-е сутки после рождения опытных и контрольных крысят после тщательного осмотра взвешивали, умерщвляли парами эфира и забирали желудок. Из одного и того же места стенки донного отдела иссекали небольшие кусочки. Одни из них после фиксации в жидкости Карнуа заключали в парафин. Изготовленные парафиновые срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином для гистологических и морфометрических исследований при помощи системы компьютерного анализа изображения «Bioscan NTI 2.0». Срезы толщиной 10 мкм использовали для определения в экзокриноцитах собственных желез и эпителиоцитах слизистой содержание рибонуклеопротеинов по Эйнарсону, нейтральных гликопротеинов по Шабадашу и гликозаминогликанов (сиало- и сульфомуцинов) путем их окраски альциановым синим при pH 2,5 и 1,0 по Spicer S. [8]. Другие кусочки после взятия подвергались глубокому замораживанию в жидком азоте с последующим монтированием в криостате фирмы «Leica CM 1850» при  $-15^{\circ}\text{C}$  на объектодержателе по принципу «контроль-опыт». Изготовленные одновременно из контрольных и опытных кусочков криостатные срезы толщиной 10 мкм использовали для определения в эпителиоцитах и экзокриноцитах собственных желез активности сукцинатдегидрогеназы по Nachlas M. et al. (1957), НАДН-дегидрогеназы по Nachlas M. et al. (1958), лактатдегидрогеназы по Hess R. et al. (1958) и кислот фосфатазы по Gomori G. (1950) [8]. Контрольные срезы инкубировались в бессубстратных растворах. Количественную оценку активности ферментов на гистохимических препаратах определяли при помощи той же системы «Bioscan NTI 2.0».

В связи с наличием в собственной железе, особенно у опытных крысят, не полностью дифференцированных форм клеток, для диагностирования главных экзокриноцитов использовались одновременно серийные срезы, окрашенные гематоксилин-эозином и срезы, обработанные на выявление рибонуклеопротеинов, париетальных – срезы, окрашенные гематоксилином и эозином и срезы, обработанные на выявление указанных дегидрогеназ, мукоцитов и щечных эпителиоцитов – срезы, окрашенные гематоксилином и эозином и срезы, обработанные на обнаружение в экзокриноцитах содержания гликопротеинов.

Полученный цифровой материал подвергали статистической обработке на персональном компьютере с применением пакета программ «Statistica 6.0» для «Windows».

### Результаты исследований

Даже при беглом осмотре желудка 15-суточных крысят, родившихся от матерей с экспериментально вызванным в период активного фетогенеза

холестазом, отличались меньшими размерами и более тонкой стенкой, нежели таковые у крысят, родившихся в обычных условиях. На гистологических препаратах слизистая оболочка желудка покрыта непрерывной пленкой слизи, а её собственный слой заметно тоньше. Глубина желудочных ямочек в разных участках слизистой, наоборот, больше, а собственные железы короче, реже расположены и с меньшим числом входящих в их состав экзокриноцитов. Притом последние по структурным и тинкториальным особенностям мало отличались друг от друга, что свидетельствует о низкой степени их дифференцировки. Чтобы получить объективные данные, были применены тщательные морфометрические и цитохимические методы исследования, что дало возможность получить объективные данные, результаты которых представлены в таблице 1.

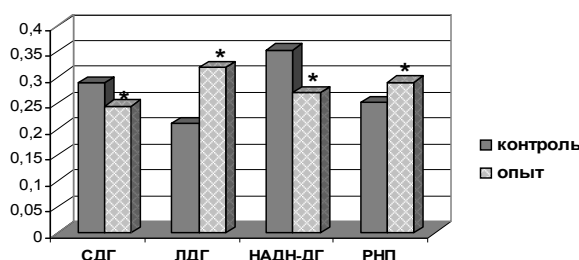
Таблица 1. Структурные показатели слизистой и собственных желез дна желудка 15-суточных крысят, родившихся в условиях холестаза по данным морфометрии ( $M \pm m$ )

Показатели	Группы	
	контроль	опыт (холестаз)
Толщина собственной пластинки слизистой (мкм)	186,82 ± 3,89	144,52 ± 3,30**
Глубина желудочных ямок (мкм)	44,76 ± 2,05	46,04 ± 1,78
Число эпителиоцитов в желудочной ямочке	15,0 ± 0,37	15,17 ± 0,39
Длина собственных желез (мкм)	143,44 ± 4,88	87,59 ± 4,18*
Число в них экзокриноцитов из них:	32,80 ± 0,75	25,52 ± 1,07*
главных	13,65 ± 0,60	8,06 ± 0,41*
париетальных	6,95 ± 0,32	3,76 ± 0,27*
мукоцитов	4,45 ± 0,26	3,07 ± 0,20*
щечных	6,36 ± 0,20	8,40 ± 0,22*
малодифференцированных	1,90 ± 0,32	3,00 ± 0,31**

Примечание: \* -различия достоверны,  $p < 0,001$ ; \*\* -  $p < 0,05$ .

Анализируя данные таблицы, становится очевидным, что у 15-суточных крысят, родившихся в условиях холестаза, статистически достоверно уменьшена толщина собственного слоя слизистой донной области желудка. Глубина желудочных ямочек проявляет тенденцию к увеличению, хотя число образующих их эпителиоцитов существенно не меняется. В пленке слизи, расположенной над поверхностно-ямочным эпителием, содержание гликопротеинов снижено. В апикальном отделе цитоплазмы эпителиоцитов в области комплекса Гольджи количество вновь синтезированных гранул этих биополимеров также уменьшено, а зачастую они совсем не выявлялись. Последнее свидетельствует о нарушении фаз секреторного цикла в эпителиоцитах – имеет место на раннем этапе постнатального онтогенеза родившихся в условиях холестаза крысят более значительного торможения фазы синтеза гликопротеинов, нежели фазы их эструзии. В поверхностной слизи имело место резкое и очаговое уменьшение содержания сиаломуцинов. Последние зачастую не выявлялись и в апикальном отделе эпителиоцитов. Не обнаруживались в пленке слизи опытных крысят и сульфомуцины, а в апикальном отделе эпителиоцитов последние выявлялись с трудом. Активность в поверхностно – ямочных эпителиоцитах СДГ, НАДН-ДГ

снижена, а ЛДГ, КФ и содержание РНП увеличены (рис. 1).



**Рис. 1. Активность СДГ, ЛДГ, НАДН-ДГ и содержание РНП в цитоплазме поверхностно-ямочных эпителиоцитов 15-суточных крысят, родившихся в условиях холестаза по данным цитофотометрии в ед.опт.пл. ( $M \pm m$ ).**

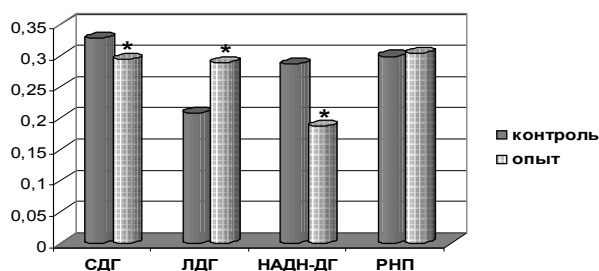
Примечание: \* - различия показателей достоверны ( $p < 0,001$ )

Резкое укорочение длины собственных желез (см. табл. 1) сопровождалось не только уменьшением числа входящих в их состав экзокриноцитов, но и изменением их качественного состава: число дифференцированных форм клеток – париетальных, главных, мукоцитов снижалось, а щеечных и других малодифференцированных форм, наоборот, возрастало. При этом даже одноименные экзокриноциты из-за разной степени дифференцированности отличались между собой по тинкториальным, структурным и цитохимическим свойствам, что создавало трудности их диагностики. Для объективного определения конкретного их типа и числа в железе нами, как указывалось выше, использовались серийные срезы, окрашенные гематоксилином и эозином и срезы, обработанные одним из гистохимических методов.

И только тщательным морфометрическим анализом этих срезов удалось установить достоверное уменьшение в собственной железе желудка опытных крысят числа главных экзокриноцитов (на 40,95%). Притом они отличались малыми размерами, плотным, в виде клеточного конгломерата, расположением в железе и небольшим содержанием цитоплазмы. Полярность её не выражена, содержание в ней РНП увеличено, но далеко не однозначно у разных клеток, иногда в ней наблюдались явления микровакуолизации. Активность в цитоплазме СДГ, НАДН-ДГ снижена. При этом продукты реакции приобретали крупноглыбчатый характер и располагались вокруг ядра в виде неравномерного по ширине узкого ободка. Активность ЛДГ, была увеличенной (рис. 2). Тенденцию к увеличению проявляла и активность КФ, особенно в главных экзокриноцитах, расположенных в области донышек собственных желез.

Хроматин ядер главных клеток, как правило, конденсирован.

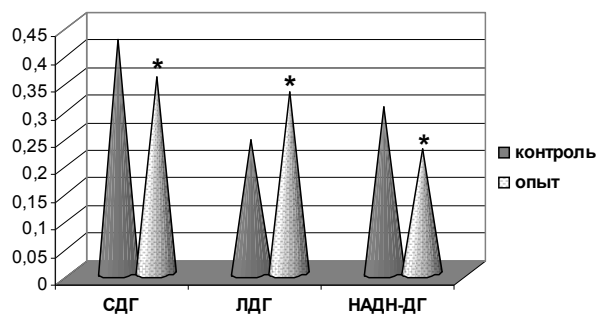
На 45,9 % уменьшено в собственной железе желудка 15-суточных крысят, родившихся в условиях холестаза матери, число париетальных экзокриноцитов. Последние располагались преимущественно в области перешейка собственных желез



**Рис. 2. Активность СДГ, ЛДГ, НАДН-ДГ и содержание РНП в цитоплазме главных экзокриноцитов 15-суточных крысят, родившихся в условиях нормы и холестаза по данным цитофотометрии в ед.опт.пл. ( $M \pm m$ ).**

Примечание\* - различия показателей достоверны ( $p < 0,001$ )

и верхней части их тел. Они отличались между собой и по оксифильности цитоплазмы, размерам и активности даже однопородных дегидрогеназ. Среди них чаще, чем у других экзокриноцитов, имели место пикноз ядер и микровакуолизация цитоплазмы. У них более отчётливы и цитохимические изменения, хотя имели одинаковую, как у других экзокриноцитов, направленность – активность СДГ, НАДН-ДГ была снижена, а ЛДГ, КФ – увеличена (рис. 3).



**Рис. 3. Активность дегидрогеназ в цитоплазме париетальных экзокриноцитов собственных желез желудка крысят, родившихся в условиях экспериментального холестаза по данным цитофотометрии в ед.опт.пл. ( $M \pm m$ ).**

Примечание: \* - различия показателей достоверны ( $p < 0,001$ ).

Уменьшенным в собственной железе опытных крысят было и число мукоцитов (см. табл.1). Однако последние к 15-суткам после рождения приобретали характерные черты строения – базальное расположение овального или уплощенного, как правило, ядра и слабо базофильную цитоплазму. Содержание в ней гликопротеинов было сниженным и последние иногда выявлялись в виде следов. Уменьшено в них и содержание сиаломуцинов, а сульфомуцины практически не обнаруживались. Изменялась в цитоплазме и активность ферментов, притом изменения были незначительными, хотя имели одинаковую направленность, как и в других экзокриноцитах.

Число же щеечных экзокриноцитов в железе опытных 15-суточных крысят, наоборот было увеличенным (см. табл. 1). Они имели малые размеры и располагались в области устья собственных желез в виде клеточного конгломерата. Содержа-

ние в их цитоплазме гликопротеинов, сиаломуцинов незначительное, а сульфомуцины, по сравнению с контрольными животными, не выявлялись. Активность в их цитоплазме изучаемых ферментов крайне низкая. Помимо этого, в собственных железах желудка опытных крысят, чаще, чем в контроле, встречались малодифференцированные формы клеток, которые по структурным, тинкториальным и цитохимическим свойствам нельзя было отнести ни к одному типу экзокриноцитов (см. табл. 1).

Таким образом, обтурационный подпеченочный холестаз беременных крыс, экспериментально вызванный в период активного фетогенеза, оказывает существенное отрицательное воздействие на развитие желудка и становление его железистого аппарата в раннем постнатальном периоде у родившегося потомства. При этом имеют место задержки развития слизистой и ее собственных желез, приводящие к уменьшению в них числа экзокриноцитов и нарушению их качественного состава. Количество высокодифференцированных форм экзокриноцитов – главных, париетальных, мукоцитов – существенно снижается, а щечных и малодифференцированных форм, наоборот, увеличивается. В поверхностно-ямочных эпителиоцитах уменьшается содержание гликопротеинов, сиало- и сульфомуцинов. Активность, особенно в дифференцированных формах экзокриноцитов дегидрогеназ сукцината, восстановленного НАД – уменьшается, а дегидрогеназы лактата и кислой фосфатазы – увеличивается. Снижены тинкториальные свойства цитоплазмы экзокриноцитов, а содержание в них рибонуклеопротеинов выше, чем в таковых экзокриноцитах контрольных, аналогичного возраста, крысят, что свидетельствует о низкой степени их дифференцированности.

#### Литература

1. Ганиткевич Я.В. Роль желчи и желчных кислот в физиологии и патологии организма // Киев: Наукова думка. – 1980, – 180с.
2. Грицюк Р.Н. Особенности развития детей при хронических заболеваниях печени у матери // Педиатрия. – 1970, -№ 3.- С. 59-61.
3. Закревский А.А. Беременность и роды при хронических заболеваниях печени и желчных путей // Антенатальная охрана плода и профилактика перинатальной патологии: тез. докл. – Киев. –1979. – С. 98-99.
4. Кизюкевич Л.С., Туревский А.А., Шелесная Е.А. Показатели метаболизма почек при экспериментальном холестазе и последующей хирургической декомпрессии желчных путей // Морфология. – 2000. – Т. 117. – №3.- С. 56-57.
5. Мацюк Я.Р., Туревский А.А., Кизюкевич Л.С., Марголь С.К. и др. Морфологические изменения фолликулов щитовидной железы в ранние сроки холестаза // Весці АН Беларусі. – 1995. – №2. – С. 96-100.
6. Мацюк Я.Р., Кизюкевич Л.С., Закурдаева М.Н., Михальчук Е.Ч. и др. Структурные особенности органов пищеварительной и мочеполовой систем 15-суточного потомства, родившегося в условиях холестаза // Ж. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2004, №3(7).- С.22-25.
7. Петухов В.А., Кузнецова М.Р., Лисин С.В., Кантемирова З.Р. Желчекаменная болезнь и беременность: причинно – следственные взаимосвязи // Анналы хирургии. – 1998. – №2. – С. 14-20.
8. Пирс А.Г. Гистохимия теоретическая и прикладная // М.: Иностранная литература. – 1962. – 962с.
9. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей М.: ГЭОТАР. Медицина, – 1999. – 858с.
10. Шехтман М.М. Экстрагенитальная патология и беременность. // Л.: Медицина. – 1987. – 296с.
11. Шехтман М.М., Коротько Г.Ф., Бурков С.Г. Физиология и патология органов пищеварения у беременных // Ташкент: Медицина. – 1989. – 190с.
12. Шумскене И., Купчинкас Л., Кондрацкене Ю. Гепатологические и акушерские аспекты внутрипеченочного холестаза беременных // Ж. Гастроэнтерология (Санкт-Петербург) – 2001. – №1. – С. 12-14.
13. Furucawa Y. Histological changes in the brain due to experimental obstructive jaundice // Nippon. Geka Gakkai Zasshi. – 1991. – V.92. – P.37-45.
14. Fuzi D. Corsello E.P., Piacentino R. // Minerva ginecol. – 1993. – V. 45. – №6. – P. 307-314.
15. Plaza F.J., Diar R.J., Pazdo O., Perez C. Colestasis intrahepatica dell embaraza. Una enfermedad benigna // Rev. Esp. Enferm. Digest. – 1996. – V.88. – №11. – P.809-811.
16. Sing L., Yanbang Ch. Xuesun F. Zhongguo puwai sicu ju linchuang zazhi // Clin. S. Bases anol Clin. Seery. – 1998. – V.5., – №3. – P. 148-149.

*Работа выполнена при поддержке ФФИ РБ № Б06-350*

#### Resume

#### STRUCTURAL PECULIARITIES AND CYTOCHEMICAL PROPERTIES OF INTRINSIC GASTRIC GLANDS IN 15-DAY-OLD RAT PUPS BORN AFTER THE CHOLESTASIS EXPERIMENTALLY INDUCED DURING THE FETOGENESIS

Ya. R. Matsiuk, E.Ch. Michalkhuk.  
Grodno State Medical University

Using the complex of histologic, morphometric, cytochemical, cytophotometric and statistical methods, it was shown that the subhepatic obturational cholestasis experimentally induced in female rats on the 17<sup>th</sup> day of pregnancy slowed the mucosal development of the stomach and the formation of intrinsic glands during the early postnatal development. The intrinsic glands exhibited the dramatic decrease in exocrinocyte length and amount, such as the changed cellular composition, including the lower contents of the main cells, parietal cells and mucocytes, and the higher level of necked and weakly differentiated cells. The exocrinocyte cytoplasmic activity of succinate dehydrogenase and NADH dehydrogenase considerably fell down and that of lactate dehydrogenase and acid phosphatase rose, especially in highly differentiated cells. The epitheliocytes of surface concavity had the low content of glycoproteins, sialomucins and sulfomucins. The tinctorial properties of exocrinocytic cytoplasm were decreased and its RNP content increased, indicating their weak differentiation.

*Поступила 21.02.07*