

УДК [618.3-06:616.3-008.811.3]:[616.33.018.73:616.155.33]-053.3]-092.9

## ВОЗРАСТНЫЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕВЫХ БАЗОФИЛОВ СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА КРЫСЯТ, РОДИВШИХСЯ В УСЛОВИЯХ ХОЛЕСТАЗА

Я.Р. Мацюк, д.б.н., профессор; Е.Ч. Михальчук

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

*Эксперимент проведен на 48 крысятах 15-, 45- и 90-суточного возраста, 29 из которых родились от самок с экспериментально вызванным на 17-е сутки беременности подпеченочным обтурационным холестазом. Гистологическими и гистохимическими методами с последующим морфометрическим и статистическим анализом установлено, что у родившихся в условиях холестаза крысят с возрастом значительно увеличивается в собственной пластинке слизистой желудка не только численная плотность тканевых базофилов (в области желудочных ямочек), но и количество их умеренно и полностью дегранулированных форм, что свидетельствует об увеличении функциональной активности этих клеток.*

**Ключевые слова:** холестаз беременных, потомство, тканевые базофилы, желудок.

*The experiment has been carried out on 48 rat pups aged 15, 45 and 90 days, 29 of them being born from female rats with subhepatic obstructive cholestasis which was experimentally induced on the 17th day. By means of histological and histochemical methods with subsequent morphometry and statistical analysis it has been determined that rat pups born under cholestasis with advancing age show a considerable increase not only in the numerical density of tissue basophils (particularly in the area of gastric pits) in lamina propria of gastric mucosa but in the number of their moderately and completely degranulated forms. This fact reflects the increase in functional activity of these cells.*

**Key words:** cholestasis of pregnancy, progeny, tissue basophils, stomach.

### Введение

За последние 50 лет изучению тканевых базофилов, как ни одной другой клеточной популяции, посвящено огромное количество статей и обширных обзоров. В последних обсуждаются структура тканевых базофилов, гетерогенность популяции, химический состав гранул и значимость клеток. Существенным свойством тканевых базофилов является непосредственное их участие в образовании, накоплении и экскреции биологически активных веществ, так как эти клетки содержат системы их биосинтеза и ферменты их инактивации [1, 7, 10, 27]. К таким биологически активным веществам относятся гепарин, серотонин, гистамин, допамин, кинины, гиалуроновая кислота и др. [19]. Ввиду этого тканевые базофилы являются клетками полифункционального действия. Они, как правило, располагаются вблизи кровеносных капилляров, венул и артериол, эпителия, гладких миоцитов, оказывая на них постоянное воздействие [3, 26]. С другой стороны, тканевые базофилы весьма чувствительны к нервным воздействиям и воздействию гормонов разных эндокринных желез [11, 17, 25]. Они являются важным компонентом обменно-трофической системы, объединяющим соединительную ткань, сосуды, нервы и клетки паренхимы. Функциональная активность тканевых базофилов может меняться в зависимости от состояния органа [22]. Притом популяция тканевых базофилов в разных органах отличается большим структурным и функциональным разнообразием и отвечает ряду требований, предъявляемых к биологическим регуляторам. Однако в отличие от регуляторов высшего порядка (нервного, эндокринного) характеризуется меньшим радиусом действия и простотой структуры. Тканевые базофилы являются регуляторами тканевого и функционального гомеостаза путем контроля за микроциркуляторным руслом и проницаемостью капилляров, и последним звеном в общей реакции адаптации на клеточном уровне [8, 11, 24]. Они регулируют трофику тканей, размножение клеток и их функции в определенных участках организма [13].

В слизистой желудка человека и животных распределение тканевых базофилов различное. В большей степе-

ни диффузное у человека, свиней и собак, и в большей степени локальное у крыс и мышей [5, 15]. Тучные клетки отличаются по морфологическим свойствам, они разобщены с эндокринными аргирофильными клетками, также вырабатывающими гистамин [20].

Из биологически активных веществ, вырабатываемых тканевыми базофилами желудка, наиболее выраженный интерес вызывает гистамин. Его находят в значительном количестве в биопсийном материале органа [23]. Доказано, что процесс новообразования гистамина прямо связан с количеством тканевых базофилов [13, 18, 21]. Установлено, что при стимуляции гистамином имеет место увеличение роста тканей, пролиферация в культуре фибробластов, гиперплазия париетальных клеток и пр. [16, 29]. Гистамин стимулирует желудочную секрецию, особенно секрецию соляной кислоты и пепсина. Показана прямая связь между нарушениями обмена гистамина и расстройством кровообращения, длительностью течения язвенной болезни [4, 9]. Установлено, что гистамин воздействует на гладкие мышцы сосудов, оказывая мощный сосудорасширяющий эффект, сопровождаемый увеличением их проницаемости, приводящий к усилению трофики и стимуляции процессов регенерации [4, 26]. Поэтому тканевые базофилы выступают как показатель реактивности и адаптационно-компенсаторных возможностей тканей [1].

Установлено, что с возрастом в пищеварительном тракте куриных эмбрионов изменяются не только тинкториальные свойства, структура тканевых базофилов, но и увеличивается их количество [28]. Увеличение числа тканевых базофилов в подкожной клетчатке кожи крыс выявлено на 3 и 7 сутки развития холестаза [2].

Как изменяются в постнатальном периоде в слизистой желудка потомства крыс, родившегося в условиях холестаза, морфофункциональные свойства тканевых базофилов, несмотря на их важность в функционировании органа, не известно. Выяснение этого вопроса и послужило целью исследования.

### Материал и методы

Эксперимент проведен на 48 крысятах 15-, 45- и 90-суточного возраста, 29 из которых были получены от 24

родивших самок, которым на 17 сутки беременности экспериментально вызывали подпеченочный обтурационный холестаз по методу Кизюкевича Л.С. [6]. Контролем были крысы, родившиеся от самок, которым на 17-е сутки беременности производилась лишь лапаротомия. Самки и родившиеся от них крысы контрольной и опытных групп находились в одинаковых условиях вивария под тщательным наблюдением.

По достижении 15-, 45- и 90-суточного возраста крысы контрольной и опытных групп подвергали эвтаназии парами эфира. Извлекали желудки, осматривали их и вырезали кусочки для гистологических и гистохимических исследований. После фиксации в жидкости Карнуа материал заключали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и использовали для гистологических исследований, другие – обрабатывали альциановым синим при pH 1.0 по А. Spicer [12] для определения в слизистой оболочке не только локализации тканевых базофилов, но и их численной плотности, типологического профиля – процента дегранулированных форм (1 группа), умеренно дегранулированных (2 группа) и находящихся в стадии депонирования секреторных гранул (3 группа) с последующим определением грануляционного индекса и индекса насыщения. Для этой цели был применен модифицированный нами метод Талапина В.И. [14], предназначенный для определения функциональных характеристик энтерохромаффинных клеток

Численную плотность тканевых базофилов, их типологический профиль определяли в поле зрения микроскопа БИОЛАМ Л-211 при увеличении 400. Грануляционный индекс представляет сумму производных числа тканевых базофилов в I, II и III группах на номер группы. Он дает представление о насыщенности гранулами тканевых базофилов поля зрения донной области желудка опытных и контрольных крыс разных возрастных групп. Индекс насыщения определяли путем деления грануляционного индекса на число тканевых базофилов в поле зрения. Последнее указывает насыщенность тканевых базофилов гранулами в каждой экспериментальной группе.

Полученный цифровой материал подвергался обработке методами параметрической статистики на персональном компьютере с применением пакета программ «Statistica 8.0» для Windows.

### Результаты исследований

Масса крысят, родившихся в условиях холестаза, особенно у 15- и 45-суточных, заметно ниже таковой у крысят контрольных групп. Отличались меньшим размером и их желудки. Заметно отставали в развитии слизистая оболочка органа и находящиеся в ней собственные железы. Последние не только были укорочены по длине, но в них изменен и качественный состав экзокриноцитов – число главных, париетальных клеток и мукоцитов уменьшено, а щечных, как представителей малодифференцированных форм, наоборот, увеличено. Притом все вышеуказанные экзокриноциты не только уменьшены в размере, но и изменены их тинкториальные свойства. Кроме этого среди экзокриноцитов в железе появлялись клетки, которые ввиду их малой дифференцированности невозможно отнести к какому-либо типу экзокриноцитов.

В собственной пластинке слизистой оболочки желудка 15-суточных крысят контрольной группы численная плотность тканевых базофилов на поле зрения (ув. 400) не высокая (таблица). Они располагались преимущественно в области тел и донышек собственных желез, отличались полиморфизмом, но, как правило, имели небольшие размеры. Из них наибольшее количество составляли умеренно дегранулированные формы (58,4%), меньшее – дегранулированные (25%). Тканевые базофилы, находящиеся в стадии депонирования, составляли всего 16,6%. Грануляционный индекс тканевых базофилов на поле зрения достигал  $6,15 \pm 0,47$  усл. ед., а индекс насыщения базофила гранулами  $1,85 \pm 0,1$ .

У 15-суточных крысят, родившихся в условиях холестаза, численная плотность тканевых базофилов на поле зрения проявляла тенденцию к увеличению и последние располагались диффузно по всей слизистой. Изменялся и их типологический профиль – число депонирующих форм уменьшалось, а дегранулированных и умеренно дегранулированных форм существенно возрастало. Проявляла тенденцию к увеличению грануляционный индекс. Индекс насыщения существенно не менялся (таблица).

На 45-е сутки после рождения у крысят контрольной группы увеличивалась не только толщина слизистой, длина собственных желез, но и возрастало в них число экзокриноцитов, особенно высокодифференцированных форм – париетальных, главных и мукоцитов. Последние все более отчетливо приобретали характерные для них структурные и тинкториальные свойства. Число же малодифференцированных форм (щечных экзокриноцитов) проявляло тенденцию к уменьшению.

Это сопровождалось увеличением числа тканевых базофилов на поле зрения почти в 2,5 раза (таблица). Притом последние приобретали тенденцию к локализации в верхней половине слизистой и отличались полиморфизмом. Среди них возрастало число дегранулированных и умеренно дегранулированных форм. Увеличение числа депонированных форм в значительной мере приводило к возрастанию грануляционного индекса. Увеличивался и индекс насыщения (таблица).

У крысят аналогичного возраста, но родившихся в условиях холестаза, численная плотность тканевых базофилов на поле зрения резко увеличивалась (с  $8,1 \pm 0,3$  клетки до  $13,0 \pm 0,6$ ;  $p < 0,001$ ) (таблица). Среди них значительно возрастало число тканевых базофилов, находящихся в состоянии полной и умеренной дегрануляции. Процентное содержание депонирующих форм, наоборот, незначительно снижалось. Возрастал грануляционный индекс, а индекс насыщения в результате выраженной дегрануляции проявлял тенденцию к уменьшению (таблица).

Таблица – Количественные морфологические показатели тканевых базофилов (ТБ) слизистой желудка крысят контрольных и опытных групп ( $M \pm m$ )

Сутки	Группы	Количество ТБ	Типологический профиль ТБ			Грануляционный индекс	Индекс насыщения
			Дегранулированные	Умеренно дегранулированные	Депонируемые		
15	Контроль	$3,2 \pm 0,35$	$0,8 \pm 0,2$	$1,87 \pm 0,17$	$0,5 \pm 0,16$	$6,15 \pm 0,97$	$1,85 \pm 0,1$
	Холестаз	$3,47 \pm 0,31$	$0,87 \pm 0,19$	$2,4 \pm 0,19^*$	$0,27 \pm 0,12$	$6,48 \pm 0,44$	$1,80 \pm 0,09$
45	Контроль	$8,1 \pm 0,36$	$1,75 \pm 0,19$	$4,35 \pm 0,29$	$2,15 \pm 0,18$	$16,36 \pm 1,25$	$2,03 \pm 0,06$
	Холестаз	$13,05 \pm 0,62^*$	$3,95 \pm 0,37$	$6,0 \pm 0,58$	$3,1 \pm 0,36$	$24,65 \pm 0,94^*$	$1,91 \pm 0,06$
90	Контроль	$12,96 \pm 0,59$	$2,78 \pm 0,17$	$4,0 \pm 0,29$	$5,52 \pm 0,57$	$25,43 \pm 3,04$	$2,08 \pm 0,07$
	Холестаз	$13,74 \pm 0,91$	$7,04 \pm 0,3^*$	$4,26 \pm 0,51$	$2,43 \pm 0,38^*$	$23,63 \pm 3,85^{**}$	$1,9 \pm 0,09^{**}$

Примечание. Различия показателей достоверны: \* -  $p < 0,0001$ ; \*\* -  $p < 0,01$ .

Морфометрический анализ численности высокодифференцированных экзокриноцитов в собственной железе показал, что их количество статистически достоверно снижено, а низкодифференцированных форм (шеечных), наоборот, увеличено ( $8,8 \pm 0,4$  клетки в опыте при  $5,3 \pm 0,8$  в контроле;  $p < 0,001$ ). Parietalные и главные экзокриноциты отличались полиморфизмом, с преобладанием малых размеров, сниженными тинкториальными свойствами, иногда микровакуолизированной цито- и кариоплазмой и пикнотизированными ядрами.

У 90-суточных крысят контрольной группы (достигших половозрелости) тканевых базофилы в собственной пластинке слизистой желудка располагались преимущественно в верхней части, т.е. в зоне обилия подэпителиальных кровеносных капилляров, и области расположения шеечных экзокриноцитов, где происходит их активная пролиферация и дифференцировка в другие экзокриноциты – париетальные, главные и мукоциты. Численная плотность тканевых базофилов в поверхностной части слизистой возрастает более существенно, нежели в предыдущий срок. В собственной железе происходит значительное увеличение не только общего числа экзокриноцитов, но и их форм, которые приобретают дефинитивные структурные и тинкториальные свойства. Число же малодифференцированных форм экзокриноцитов (шеечных) продолжает находиться на уровне предыдущих сроков.

Среди возросшего числа тканевых базофилов увеличивается количество дегранулированных форм, а в состоянии умеренной дегрануляции, наоборот, снижается. Возрастает число депонирующих форм. Это приводит к увеличению в тканевых базофилах слизистой грануляционного индекса и индекса насыщения (таблица).

У крысят, родившихся в условиях холестаза и достигших 90-суточного возраста, проявляется тенденция к еще большему увеличению численной плотности тканевых базофилов на поле зрения (таблица). Последние локализуются преимущественно в верхней трети собственной пластинки слизистой в непосредственной близости от поверхностно-ямочных эпителиоцитов, подэпителиальных гемокапилляров и шеечных экзокриноцитов. Несмотря на увеличение числа дегранулированных форм тканевых базофилов просветы гемокапилляров, как правило, не расширены и переполнены форменными элементами крови. Тканевые базофилы отличались выраженным полиморфизмом и в зоне тел и донышек собственных желез, где находились в весьма малом количестве, среди которых преобладали умеренно и полностью дегранулированные формы. Количество депонирующих форм значительно уменьшено. Проявляется тенденция к снижению грануляционного индекса и индекса насыщения.

Несмотря на резкое уменьшение числа депонирующих форм тканевых базофилов, в собственных железах желудка опытных 90-суточных крысят снижено как общее число экзокриноцитов, так и входящих в их состав париетальных, главных клеток и мукоцитов. Однако при этом просматривается тенденция к нормализации их структурных и тинкториальных свойств. В главных экзокриноцитах в результате возросшей базофилии цитоплазмы проявляется полярность. Однако при этом имеет место микровакуолизация цито- и кариоплазмы, пикноз ядер экзокриноцитов.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что у крысят, родившихся в обычных условиях, с возрастом в собственной пластинке слизистой желудка увеличивается численная плотность тканевых базофилов, существенно меняется их типологический

профиль – прогрессивно возрастает число умеренно и полностью дегранулированных форм. Увеличивается грануляционный индекс, а индекс насыщения, наоборот, уменьшается. Изменяется и характер локализации тканевых базофилов – от диффузного распределения по всей слизистой до локального, в верхней трети слизистой, находясь в непосредственной близости от поверхностно-ямочного эпителия, подэпителиальных гемокапилляров, а также в области зоны расположения шеечных мукоцитов, из которых дифференцируются кислото-, пепсино- и слизепroduцирующие экзокриноциты собственных желез и эпителиоциты желудочных ямочек слизистой.

Учитывая многопрофильность тканевых базофилов, становится очевидным, что выделяемые в результате возросшей дегрануляции тканевых базофилов биологически активные вещества оказывают на микроциркуляторное русло и шеечные экзокриноциты воздействие, стимулирующее не только процессы пролиферации последних и их дифференцировку в основные экзокриноциты собственных желез, но их функциональную активность.

У крысят, родившихся в условиях холестаза и находившихся под воздействием эндогенной интоксикации продуктами холестаза (в первую очередь, вероятно, желчных кислот), в значительной степени имеет место торможение в слизистой желудка не столь процесса пролиферации шеечных экзокриноцитов, как процесса их дифференцировки в дефинитивные формы экзокриноцитов собственных желез, что подтверждается резким уменьшением в них числа кислото-пепсино- и слизепroduцирующих клеток. Наблюдаемое при этом в разные возрастные периоды не только увеличение численной плотности тканевых базофилов, но и их дегранулированных и умеренно дегранулированных форм, приводящих к снижению индекса насыщения, является доказательством резкого увеличения их функциональной активности. Выделяемые из тканевых базофилов в процессе дегрануляции биологически активные вещества оказывают, вероятно, не только компенсаторное, но и адаптивное воздействие на процессы, протекающие в слизистой желудка потомства, родившегося в условиях холестаза.

### Литература

1. Арташян, О.С. Система тучных клеток при действии на организм экстремальных факторов / О.С. Арташян // Автореф. .... канд. биол. наук. – Екатеринбург, 2006. – 23 с.
2. Бурназян, Р.А. Гепарин и тучные клетки в динамике экспериментального внепеченочного холестаза / Р.А. Бурназян // Булл. эксп. биол. и мед. – 1976. – Т. 81, № 4. – С. 407-409.
3. Виноградов, В.В. Тучные клетки / В.В. Виноградов, Н.Ф. Воробьев. – Новосибирск: Наука, 1973. – 128 с.
4. Дайнеко, Н.Ф. Система гистамин-гистаминопексия и капиллярное кровообращение у больных язвенной болезнью / Н.Ф. Дайнеко [и др.] // Гастроэнтерология. – Киев, 1974. – Вып. 6. – С. 41-47.
5. Долмане, А.Р. Тучные клетки слизистой оболочки пищеварительного тракта / А.Р. Долмане [и др.] // Систем. свойства тканев. орг. 3-й семинар «Развитие общей теории функций. систем». – М., 1977. – С. 78-80.
6. Кизюкевич, Л.С. Реактивные изменения в почках при экспериментальном холестаза / Л.С. Кизюкевич. – Гродно, 2005. – 219 с.
7. Красавина, Н.П. Тучные клетки органов дыхания и перспективы их изучения (обзор литературы) / Н.П. Красавина, С.С. Целуйко, В.А. Доровских // Булл. физиол. и патол. дых. – 2004. – Вып. 19. – С. 74-79.
8. Линднер, Л.П. Тучные клетки как регуляторы тканевого гомеостаза и их место в ряду биологических регуляторов / Л.П. Линднер, Э.М. Коган // Архив патологии. – 1976. – Т. 38, № 8. – С. 3-14.

9. Лопунова, Ж.К. Возможные причины гетерогенности гистохимических свойств тканевых базофилов / Ж.К. Лопунова, Д.И. Гордон // Архив анат., гист. и эмбр. – 1986. – Т. 91, № 12. – С. 78-81.
10. Меркулова, Л.М. Сезонные изменения уровня биогенных аминов в тканевых базофилах различной локализации в норме и при экспериментальном дисбалансе биоаминов / Л.М. Меркулова [и др.] // Тез. докл. 2 Всерос. съезда анат., гист. и эмбр. (Ленинград). – М., 1988. – С. 78-79.
11. Павлов, А.В. Участие тканевых базофилов околотитовидных желез в регуляции морфофункционального состояния органа / А.В. Павлов // Архив анат., гист. и эмбр. – 1988. – Т. 74, № 7. – С. 51-54.
12. Пирс, Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М.: ИЛ, 1962. – 962 с.
13. Проценко, В.А. Тканевые базофилы и базофильные гранулоциты крови / В.А. Проценко, С.И. Шпак, С.М. Доценко. – М.: Медицина, 1987. – 128 с.
14. Талапин, В.И. Гистохимические изменения в энтерохромаффинных клетках под влиянием димеркабина / В.И. Талапин // Цитология. – 1964. – Т. 6, № 1. – С. 86-88.
15. Чернобаева, И.Д. Влияние пентагастрина на тучные клетки слизистой оболочки фундальной части желудка морских свинок и крыс / И.Д. Чернобаева, Х.Я. Пужака // Функция морфол. органов в патологии. – Рига, 1980. – С. 132-134.
16. Beaven, M. Histamine: its role in physiological and pathological processes / M. Beaven // Monogr. Allergy. – 1978. – Voll. 13. – 113 p.
17. Dasgupta, S.R. Studies on mast cell population of thyroid thymus and pineal gland under altered functions of thyroid in different experimental conditions / S.R. Dasgupta, S.N. Banerjee, C.S. Bhattacharya // Indian J. Physiol. and Allied. Sci. – 1983. – Vol. 37, № 4. – P. 163-168.
18. Di Bello, M.G. Histamin rebase from rat mast cells induced by the metabolic activation of drags of abuse into free radicals / M.G. Di Bello, E. Masini, C. Joannides // Inflammation Research. – 1998. – Vol. 47. – P. 122-130.
19. Fal, W. Structura i funkcija komorek tucznyck (mostocytow) / W. Fal // Post. hig. i med. dosw. – 1974. – Vol. 28, № 2. – P. 147-168.
20. Kruger, G. Histamin of dets betydning for organismen / G. Kruger // Tidsskr. Morske jaegerforen. – 1977. – Vol. 97, № 31. – P. 1625-1627.
21. Lazarus, S.C. The role of mast cell – derived mediators in airway function / S.C. Lazarus // Amer. Rev. Resp. Dis. – 1987. – Vol. 135, № 6. – Pt. 2. – P. 35-38.
22. Modlinger, G. Circadian rhythm of the thyroid mast cells in untreated and methylthiouracil-treated rats / G. Modlinger // Folia biol. (Krakow). – 1989. – Vol. 37, № 3-4. – P. 155-164.
23. Mohri, K. Histamine content and mast cells in human gastric and duodenal mucosa / K. Mohrik [et al.] // Agents and Actions. – 1978. – Vol. 8, № 4. – P. 372-375.
24. Rosonen, T. Mast cells and eosinophils as regulators of functional homeostasis in the gastric mucosa / T. Rosonen // «Agents and Actions». – 1980. – Vol. 10, № 1-2. P. 185-187.
25. Rosonen, T. On the function of mast cells in the gastric mucosa / T. Rosonen // Acta. pathol. et microbiol. Scand. – 1962. – Suppl. \_\_, № 154. – P. 201-203.
26. Schayer, R.W. Histamine and microcirculation / R.W. Schayer // Life Sci. 1974. – Vol. 15, № 3. – P. 391-401.
27. Steer, H.W. Mast cells of the human stomach / H.W. Steer // J. Anat. – 1976. – Vol. 121, № 2. – P. 285-397.
28. Wang, T. Mast cells in the chick digestive tract / T. Wang // Development Tokai. J. Exp. and Clin. Med. – 1991. – Vol. 16, № 1. – P. 21-26.
29. Zivi-Schaffer, F. Mast cells enhance migration and proliferation of fibroblasts into an in vitro wound / F. Zivi-Schaffer, A. Kupietzku // Exp. Cell. Res. – 1990. – Vol. 188, № 1. – P. 42-49.

Поступила 26.05.10