

УДК: 591.135+591.4:577.1:612.014.48

МОРФО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТОНКОМ КИШЕЧНИКЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Палёная Ю.В., Филоненко Т.Г., Казакова В.В.

С анатомо-гистологических позиций пищеварительный тракт представляет собой мышечную «трубку», которая изнутри выстлана слизистой оболочкой. Последняя, как правило, состоит из трех компонентов: эпителиального покрова, собственной пластинки из соединительной ткани, которая поддерживает этот покров, и мышечной пластинки, выполняющей локальную функцию «контракция-релаксация». Под слизистой оболочкой располагается подслизистая основа в виде рыхлой соединительной ткани с расположенными в ней кровеносными и лимфатическими сосудами, количество которых и степень распределения переменны в разных анатомических участках кишечника. В подслизистом слое также располагаются лимфоидные фолликулы, выполняющие функцию иммунного надзора. Мышечная оболочка кишечника состоит из переплетающихся между собой в различных направлениях мышечных волокон. Серозная оболочка представлена рыхлой соединительной тканью, покрытой мезотелием [1].

Эпителиальная выстилка слизистой оболочки выполняет различные специализированные функции, благодаря разнообразию составляющих ее эпителиальных клеток (ЭК) с различной функциональной морфологией. Структурно-функциональная гетерогенность ЭК имеет особое биологическое предназначение и отвечает за увлажнение и мукопротекторную функцию, функцию всасывания. Перманентное обновление ЭК слизистой оболочки протекает относительно быстро, в среднем в течение суток. При такой интенсивности клеточной пролиферации неизбежны «ошибки» роста и размножения камбиальных клеток, возникновение альтеративных и экссудативных реакций, а также ответные реакции на раздражение в виде гиперплазии фолликулов, особенно под воздействием различных экзогенных факторов [2].

Одним из наиболее активных факторов разрушающих нормальную структуру эпителия кишечника является воздействие ионизирующей радиации (ИР), которая возникает как в условиях техногенных катастроф, так и при применении лучевой терапии. Частота лучевых повреждений кишечника по данным разных авторов, в зависимости от сроков проявления радиационных поражений, встречается от 1 до 68% случаев [3 – 5]. Известно, что под воздействием ионизирующей радиации страдают функции клеточных и сывороточных протеолитических и

антиоксидантных ферментов, что может являться причиной радиационного эндотоксикоза [6, 7].

В связи с этим целью нашего исследования явилось определение взаимосвязи морфогенеза и морфологических проявлений в кишечнике с биохимическими изменениями, происходящими под воздействием ионизирующего излучения, что и явилось целью нашего исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты были проведены на 80 белых лабораторных крысах-самцах линии «Вистар» массой 180-220 г. Однократное облучение животных в дозе 6 Гр проводили с использованием установки «АГАТ-Р1».

Все крысы были разделены на 5 экспериментальных групп в зависимости от времени, которое прошло после облучения. Забой животных проводили путем декапитации через 24 часа, 3 дня, 7, 14 и 30 дней после воздействия ионизирующего излучения.

Материалом для исследования служили отдельные участки и супернатант гомогената тканей слизистой тонкого кишечника, взятые после забоя крыс.

Качественная оценка патологических изменений слизистой оболочки тонкого кишечника проводилась с помощью гистологического исследования с использованием окраски гематоксилин-эозин [1, 8]. Просмотр и фотографирование слайдов осуществляли на световом микроскопе Olympus CX-41.

Определение трипсиноподобных ферментов и уровня α_1 -ингибитора протеиназ (ИП) проводили с использованием специфического субстрата – этилового эфира N-бензоил-L-аргинина (БАЭЭ) фирмы «Reanal» [9]. Определение концентрации средномолекулярных олигопептидов (СМО) проводили по методике Н.И. Габриэлян и соавторов [10, 11].

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с помощью программы MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований выявлены биохимические и морфологические изменения в тканях тонкого кишечника, индуцированные ионизирующим излучением. Закономерность развития данных изменений прослеживалась следующим образом.

Через 24 после воздействия ИР в супернатанте гомогената слизистой оболочки тонкого кишечника происходило падение трипсиноподобной активности на 18,38% по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Уровень α_1 -ингибитора протеиназ, в свою очередь, возрастал и на 30,03% превышал показатели контрольной группы.

При этом концентрация средномолекулярных олигопептидов была на 165,12% выше контрольных значений.

При морфологическом исследовании в слизистой стенки тонкого кишечника преобладали умеренные проявления нарушения кровообращения и интерстициальный отек. Отмечалось полнокровие капилляров ворсин и сосудов собственной оболочки. Со стороны ЭК отмечалась гиперсекреция бокаловидных клеток, способствующих

выделению секрета, покрывающего поверхность эпителия, что можно расценить как начальную компенсаторно-приспособительную защитную реакцию на воздействие повреждающего агента.

В дальнейшем, происходило постепенное увеличение трипсиноподобной активности, которая как на 3 день, так и на 7 день эксперимента была на 6,73% и на 65,92% выше показателей контрольной группы, соответственно. Уровень ингибитора протеиназ на 3 сутки после облучения продолжал возрастать, и на 60,72% был выше контроля, а затем происходило постепенное снижение его концентрации. Уровень эндотоксикоза повышался и на 3, 7 сутки после действия ИР содержание СМО на 270,59% и 241,17% превышало значение показателей, которые были зарегистрированы у животных, не подвергавшихся облучению ($p < 0,05$). Повышение уровня СМО в начальный период свидетельствует о немедленном реагировании тканей на повреждающее действие ионизирующего излучения, вследствие дисбаланса протеазо-антипротеазной системы и смещения равновесия в сторону усиления протеолитических процессов.

При исследовании на 3-й и 7-й день также отмечались функционально-морфологические изменения слизистой тонкого кишечника. При микроскопическом исследовании наблюдали нарастание дистрофических и деструктивных изменений. Ворсины резко отечны, полнокровны. Отмечалась десквамация эпителиальных клеток. В некоторых участках тонкого кишечника появлялись эрозии, проявляющиеся отторжением ворсин с оголением собственной пластинки эпителия.

На 7 сутки обнаруживали язвенные дефекты слизистой, распространяющиеся вплоть до мышечного слоя. Дно таких язв покрыто лейкоцитарным инфильтратом. Лейкоцитарная инфильтрация также появлялась и в сохранных ворсинах, что свидетельствовало о воспалительной реакции. Нарастали расстройства кровообращения, проявляющиеся полнокровием сосудов, периваскулярным отеком и периваскулярными кровоизлияниями. При этом сосудистая стенка находилась в состоянии повышенной проницаемости. В интерстиции отмечали отек и набухание коллагеновых волокон (рис. 1).

Зарегистрированные изменения можно объяснить немедленной реакцией чувствительных тканей тонкого кишечника на повреждающее действие радиации. При этом активация протеолиза может приводить к накоплению эндогенных токсинов не только в сыворотке крови, но и тканях. Эндогенные токсины, циркулирующие в крови, воздействуют на сосудистую стенку, в связи с чем, повышается проницаемость последней, что проявляется выраженными экссудативно-некротическими изменениями в тонком кишечнике. Именно этим можно объяснить падение ферментативной активности в дальнейшие сроки эксперимента.

На 14 день активность трипсиноподобных ферментов была на 8,07% выше контрольных значений, а к 30 дню падение активности стало более выраженным. При этом показатели ТПА были ниже на 31,84% по сравнению со значениями, зарегистрированными в контрольной группе. Уровень ингибитора на 14 день исследования снижался на 22,23% по сравнению со значениями данного показателя у здоровых животных, а в отдаленные сроки эксперимента отмечалось

незначительное повышение его содержания ($p < 0,05$). Однако контрольных значений уровень α_1 -ингибитора протеиназ так и не достигал, что свидетельствует о продолжающихся патологических процессах в данной ткани.

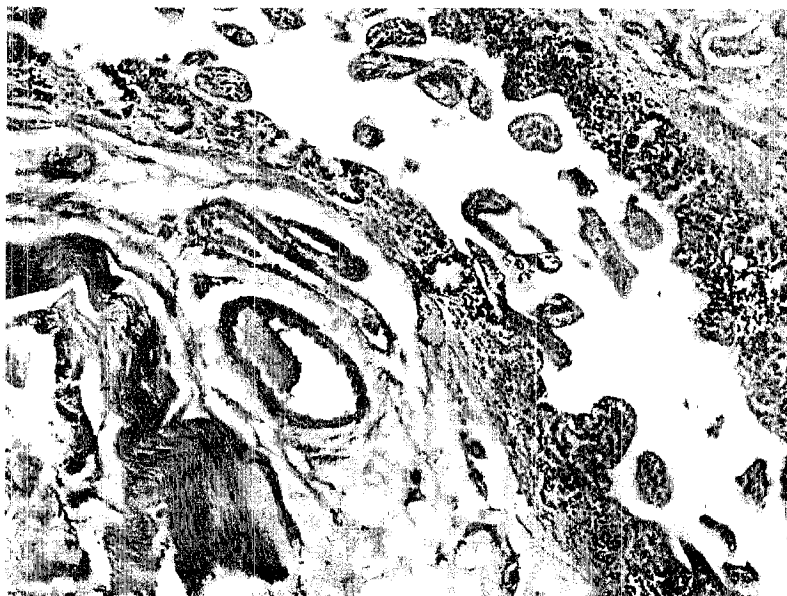


Рис. 1. Стенка тонкого кишечника через 7 дней после воздействия ионизирующего излучения (некроз поверхностного эпителия, отек интерстиция, полнокровие сосудов). Ув. 100.

При гистологическом исследовании стенки тонкого кишечника в слизистой отмечались признаки острого катарального энтерита, проявляющиеся десквамацией ЭК на большем протяжении исследуемых препаратов, некрозом ворсин, выраженным нарушением кровообращения в виде наличия стаза и множественных периваскулярных кровоизлияний, лейкоцитарной и лимфогистиоцитарной инфильтрацией в подслизистом слое, что является проявлением эндотоксической реакции (рис. 2).

На 30 сутки уровень токсических продуктов в супернатанте гомогената тканей слизистой тонкого кишечника оставался на достаточно высоком уровне и был на 171,1% выше показателей, зарегистрированных в контрольной группе ($p < 0,05$). Но при морфологическом исследовании четко обнаруживались признаки компенсаторно-приспособительных процессов, проявляющиеся на некоторых участках регенерацией эпителия ворсин и эпителизацией эрозий. При этом набухшие и деформированные ворсины имели различную форму, а эпителиальные клетки не достигли своей дифференцировки. Гиперемия сосудов и отек интерстиция постепенно уменьшались.

Следует отметить, что на 30-е сутки воспалительный инфильтрат был представлен в основном лимфоцитами и гистиоцитами, появлялись единичные плазматические клетки и фибробласты, что говорит о хронизации воспалительного процесса и начальных проявления склеротических изменений (рис. 3).



Рис. 2. Стенка тонкого кишечника через 14 дней после действия тотального гамма-облучения (лейко-лимфоцитарная инфильтрация слизистой, отек интерстиция). Ув. 40.

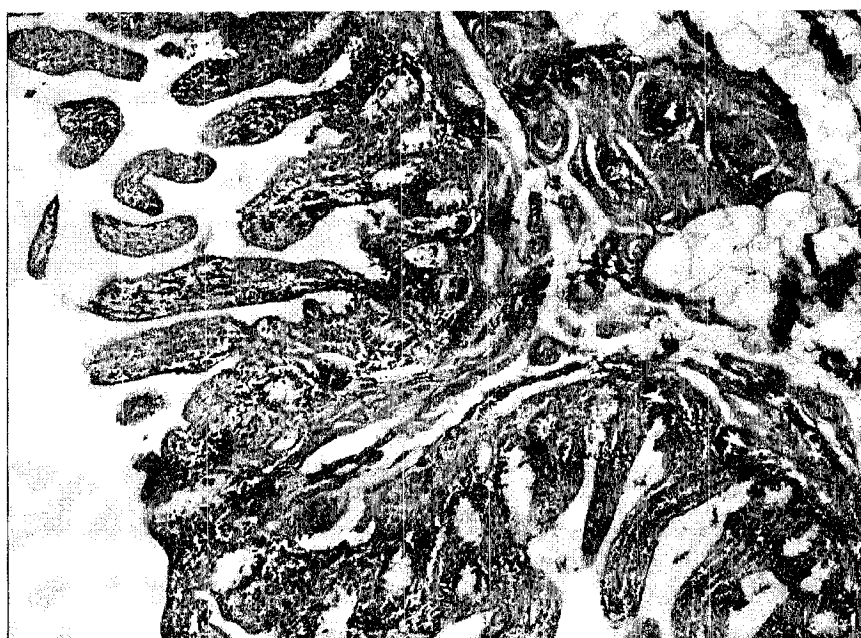


Рис. 3. Стенка тонкого кишечника через 30 дней после действия ионизирующего излучения (регенерация слизистой с деформацией ворсин). Ув. 100.

ВЫВОДЫ

1. Проведенные нами исследования показали, что ИР оказывает повреждающее действие на достаточно васкуляризованную ткань тонкого кишечника, и вызывает развитие эндотоксических реакций.

2. Полученные данные свидетельствуют о четкой взаимосвязи функционально-морфологических изменений и биохимическими показателями. Уже на 1 сутки после воздействия ИР наряду с дисбалансом протеазо-ингибиторной системы в тканях тонкого кишечника отмечалась сосудистая реакция, которая в дальнейшем нарастала на 3 - 14 сутки. Это было выражено как изменением биохимических показателей, так и экссудативно-некротическими повреждениями в стенке тонкого кишечника, проявляющихся острым катаральным энтеритом, а в некоторых случаях и язвенным энтеритом.

3. Установлено, что на 30-е сутки после облучения в тканях лабораторных животных происходило снижение концентрации СМО, возможно, за счет включения компенсаторно-приспособительных механизмов. Однако, сохраняющийся эндотоксикоз, является подтверждением развивающихся дальнейших деструктивных процессов, проявляющихся в хронизации воспалительного процесса.

Список литературы

1. Гистология, цитология и эмбриология. / Под ред. Афанасьева Ю.И., Юриной Л.А. – М.: Медицина, 2002. – 743 с.
2. Крстич Радивой В. Иллюстрированная энциклопедия по гистологии. – СПб.: СОТИС, 2001. – 536 с.
3. Кожемякин Л.А., Красовой С.А. Молекулярные механизмы действия ионизирующей радиации // Военно-медицинский журнал. – 1993. – № 4. – С. 33-37.
4. Мороз В.А. Діагностика та лікування місцевих променевих ускладнень після променевої терапії та радіаційних аварій: Автореф. дис...-ра мед.наук: 14.01.23 / Інститут онкології АМН України. – К., 2001. – 26 с.
5. Gunderson L., Martenson J. Gastrointestinal tract radiation tolerance // Radiat. Tolerance Norm. Tissues: 23 rd Annu. San-Francisco Cancer Sump. – Basel etc. – 1989. – P. 274-298.
6. Петришин Ю.С., Мельник О.І., Терлецькі О.І. Зміни в системі пероксидне окислення ліпідів – антиоксидантна активність при дії малих доз іонізуючого випромінювання як прояв компенсаторних можливостей різних секреторних органів шлунково-кишкового тракту // Буковинський медичний вісник. – 2003. – Т.7, № 1-2. – С. 124-126.
7. Чорна В.І. Цистеїнові катепсини в умовах променевого ураження та злоякісного росту: Автореф. дис...-ра біол.наук: 03.00.01 / Київський національний університет ім. Т.Г. Шевченка. – Дніпропетровськ, 2001. – 25 с.
8. Bock P., Tillmann B., Osterkamp U. Grid electron microscopy studies of isolated intestinal epithelium // Z. Microsk. Anat. Forsch. – 1980. – Vol.94, № 6. – P. 1077-89.
9. Кринская А.В., Пасхина Т.С. Количественное определение калликрейна и калликреиногена в сыворотке (плазме) крови человека // Современные методы биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 163-170.
10. Габриэлян Н.И., Липатова В.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей // Лабораторное дело. – 1984. – № 3. – С.138-140.
11. Карякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3-8.

Поступила в редакцию 04.04. 2006 г.