

ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СЛИЗИСТОЙ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ АДЬЮВАНТНОГО АРТРИТА

Н.Н. Каладзе, Т.Г. Филоненко, О.А. Сизова

ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского» МЗ Украины, г. Симферополь

Резюме. Проведена оценка ультраструктурных изменений слизистой тонкого кишечника. Определены характерные изменения ультраструктуры компонентов слизистой оболочки тонкой кишки при моделированном адьювантном артрите, проявляющиеся в основном дистрофическими и деструктивными процессами в энтероцитах.

Ключевые слова: ультраструктура, электронная микроскопия, тонкая кишка, ювенильный ревматоидный артрит.

Введение

Ювенильный ревматоидный артрит (ЮРА) занимает ведущее место среди ревматических заболеваний детского возраста. Неясная до сих пор этиология заболевания и сложный, преимущественно аутоиммунный, патогенез [4,6,7], развитие множественных системных проявлений определяют тяжесть и неблагоприятный прогноз заболевания. Современный арсенал противоревматических препаратов не всегда является гарантом успешного лечения ЮРА и имеет множество побочных реакций, в том числе и поражений слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [4,5,10,13]. Патология органов ЖКТ, по данным разных авторов, выявляется у 13–62% больных, страдающих ЮРА, и занимает значительное место среди внесуставных проявлений этого заболевания [9,16,18]. Природа таких изменений органов пищеварения обусловлена не только проявлением системности ревматоидного воспаления [11,12,15], но и повреждающим действием нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), глюкокортикостероидов (ГКС), их комбинаций, а также сопутствующим хеликобактериозом [11,15,17–19]. Профессор Veena Taneja (Meuo Clinic) считает, что возможным местом, где реализуются ранние этапы патогенеза ревматоидного артрита, является ЖКТ, а среди основных этиологических факторов — микробные антигены, что может быть пусковым механизмом в развитии аутоиммунных болезней, включая и ревматоидный артрит [1,14,19]. Патология кишечника при ЮРА достаточно широко освещена в научной литературе [2–4]. Но менее изученными остаются функциональные, морфологические и ультраструктурные особенности слизистой тонкого кишечника, которые могут объяснить некоторые патогенетические механизмы развития патологии ЖКТ при ЮРА.

Цель исследования: определить ультраструктурные особенности в слизистой тонкой кишки при моделировании адьювантного артрита у экспериментальных животных.

Материал и методы исследований

Материалом для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) явились фрагменты слизистой оболочки тонкого кишечника, взятые у 10 исследуемых крыс породы Wistar, которым моделировали артрит адьювантом Фрейнда в соответствующих дозировках. Экспериментальная модель сопоставима к детскому возрасту человека. С целью контроля исследовали тонкий кишечник у 5 здоровых крыс. Фиксацию и проводку для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) осуществляли по стандартной методике. Полутонкие срезы (1 мкм) изготавливали на микроультратоме SEO UMC (Украина), окрашивали метиленовой синью и просматривали в световом микроскопе для ориентировочного определения характера материала. После этого на том же ультратоме изготавливали тонкие срезы (30–60 нм), которые после окраски по Рейнольдсу просматривали на электронном микроскопе ПЭМ-125 К (Украина) и фотографировали на пленку KODAK при увеличении от 1000 до 30000.

При моделированном артрите слизистая тонкого кишечника в целом сохраняла характерное для нее строение. Однако анализ электронограмм позволил определить ультраструктурные изменения клеточных и внеклеточных компонентов слизистой оболочки тонкой кишки, характерных для ЮРА и отображающих признаки хронического системного воспаления. Обращает внимание ослабление межклеточных контактов между эпителиальными клетками слизистой тонкой кишки, проявляющееся отеком, разрыхлением и очаговой деструкцией демосом. В расширенных межклеточных промежутках появляются клетки воспалительного ряда, преимущественно лимфоциты (рис. 1), которые могут быть причиной мальабсорбции, развивающейся у детей с ЮРА.

Результаты исследования и их обсуждение

Наличие лимфоцитов, находящихся в межэпителиальной зоне и в собственной пластике слизистой оболочки тонкой кишки, инициирует цитокиновый каскад, апоптоз энтероцитов (рис. 2) и стимулирует продукцию антител. При этом происходит перераспределение эухроматина с плотной конденсацией его по периферии. В некоторых

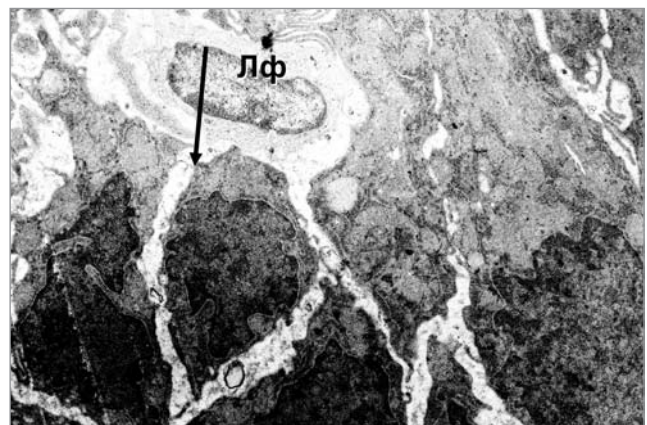


Рис. 1. Слизистая тонкой кишки с расширением межклеточных контактов (стрелки) и межэпителиальными лимфоцитами (Лф). ТЭМ. Увеличение $\times 5000$

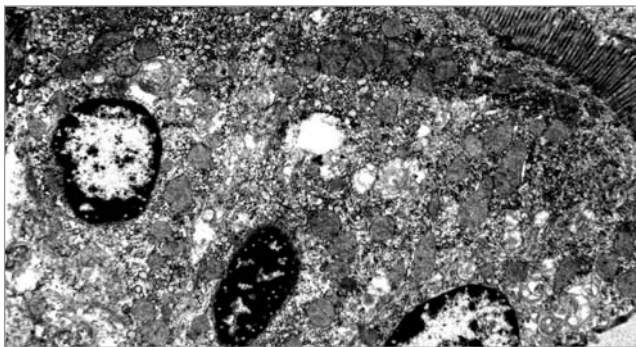


Рис. 2. Энтероцит (Эн). Ядро (Я). Перераспределение хроматина по периферии (стрелки). Пикноз ядра (звездочка). ТЭМ. Увеличение $\times 3000$

клетках ядро уменьшается, становится пикнотичным с диффузно конденсированным эухроматином, что свидетельствует о начальных признаках апоптоза энтероцитов.

Исчерченная каёмка и апикальная зона энтероцита первоначально подвергаются патологическим изменениям, проявляющимся дегенерацией гликокаликса, очаговой десквамацией и деформацией микроворсинок, что снижает функцию защитного барьера слизистой. Вследствие этого развивается местная воспалительная реакция, при которой повышается проницаемость клеточной мембраны, развиваются дистрофические и деструктивные изменения в клетках. Характерным является перераспределение эухроматина в ядрах, признаки внутриклеточного отека и гидропической дистрофии с развитием вакуолизации канальцев эндоплазматической сети и митохондрий, деструкцией митохондриальных крист со снижением их электронной плотности, повышением проницаемости межэпителиальных контактов. При этом образуются мелкие очаги эрозий, в которых локализуются клетки воспалительного ряда, такие как эозинофилы, нейтрофилы, макрофаги, тучные клетки, лимфоциты и плазмциты, участвующие в иммунном ответе при развитии ЮРА (рис. 3). Тучные клетки располагаются преимущественно около кровеносных капилляров и содержат специфические осmioфильные гранулы, окруженные мембраной. В цитоплазме эозинофилов наблюдается также большое количество осmioфильных гранул, но имеющих овальную форму мелких размеров (рис. 3).

Кроме того, обнаружены изменения со стороны эндотелиоцитов, в отростках которых появляется множество везикул низкой электронной плотности, появляются межэндотелиальные щели, что способствует повышению проницаемости сосудистой стенки и выходу плазмы за

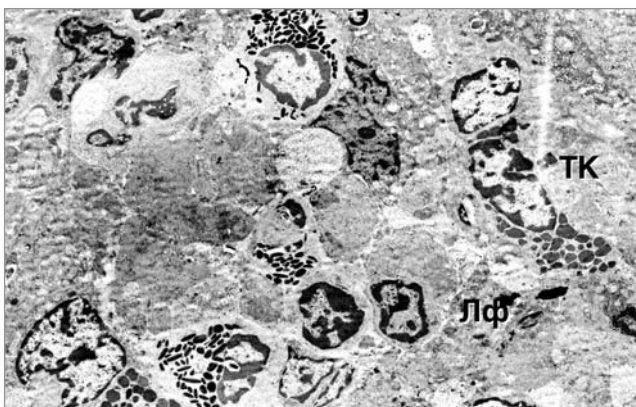


Рис. 3. Воспалительный инфильтрат: эозинофилы (Э), лимфоциты (Лф), тучные клетки (ТК). ТЭМ. Увеличение $\times 2000$

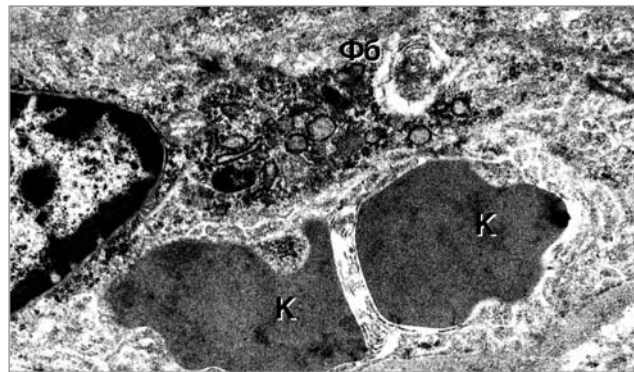


Рис. 4. Фибробласт с признаками деструкции (Фб). Полнокровные капилляры (К). ТЭМ. Увеличение $\times 5000$

пределы капилляра с образованием периваскулярного отека, набуханию коллагеновых волокон, межклеточного вещества и деструкции фибробластов (рис. 4).

Следует отметить, что поскольку воспалительный процесс растянут во времени, то в течение этого срока в клетках наряду с деструктивными процессами могут активизироваться компенсаторно-приспособительные механизмы, направленные на сохранение клеточного гомеостаза. Поэтому часть наблюдаемых изменений в ультраструктуре клеток при моделированном ЮРА может рассматриваться как адаптивная реакция. Так, в некоторых энтероцитах отмечалось повышение функциональной активности, проявляющееся увеличением количества секреторных гранул различной электронной плотности. При этом они находятся в различном функциональном состоянии с преобладанием клеток в состоянии эндоцитоза. Секреторные гранулы располагались в апикальной части цитоплазмы над ядром. Апикальная мембрана сглажена, микроворсинки деформированы и представляют собой цитоплазматические выпячивания. В бокаловидных клетках преобладают формы с признаками экзоцитоза. Количество электроннопрозрачных секреторных гранул в них уменьшено, сосредоточены на апикальной поверхности в области разрыва цитолеммы. Секретируемая слизь располагается на поверхности слизистой тонкой кишки. В этих же клетках появляются молодые гранулы с умеренной электронной плотностью. Митохондрии сохранены с наличием правильно ориентированных крист. Однако обедненные рибосомами цистерны эндоплазматической сети частично расширены и вакуолизованы. Базальная мембрана непрерывна, отмечается набухание межклеточного вещества и коллагеновых волокон (рис. 5).

Таким образом, выявленные изменения ультраструктуры стенки тонкого кишечника при адьювантном артрите в срав-

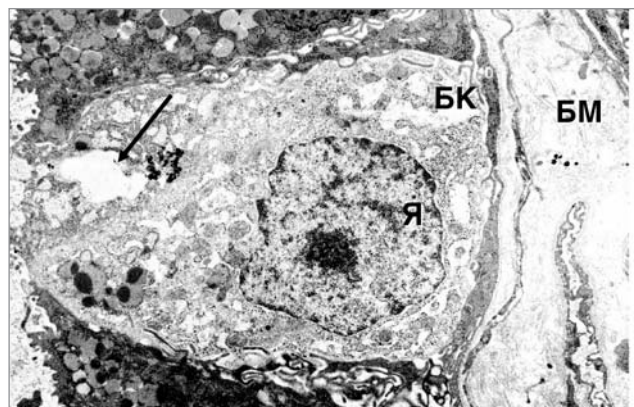


Рис. 5. Энтероцит (Эн). Бокаловидная клетка (БК). Ядро (Я). Разрыв цитолеммы (стрелка). Базальная мембрана (БМ). ТЭМ. Увеличение $\times 6000$

нении с контрольной группой здоровых животных свидетельствовали о преобладании воспалительных, дистрофических и деструктивных процессов, влекущих за собой необратимые изменения слизистой оболочки тонкого кишечника.

Выводы

Анализ электронномикроскопического исследования отражает патогенетические механизмы патологического процесса в слизистой тонкого кишечника при экспериментальном адьювантном артрите.

Определены характерные изменения ультраструктуры компонентов слизистой тонкого кишечника при экспериментальном адьювантном артрите, проявляющиеся в

основном, дистрофическими и деструктивными процессами в энтероцитах.

Экспериментально доказано наличие характерного воспалительного инфильтрата, состоящего из большого количества эозинофилов, лимфоцитов, макрофагов, тучных клеток и плазмодитов в слизистой тонкого кишечника, присутствие межэпителиальных лимфоцитов, отображающих участие местных иммунных реакций в развитии адьювантного артрита.

В ходе эксперимента доказано включение компенсаторных реакций, проявляющихся в увеличении количества митохондрий и секреторных гранул в энтероцитах и бокаловидных клетках, направленных на восстановление слизистого барьера тонкой кишки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гульнева М. Ю. Микробиоценоз кишечника при некоторых системных заболеваниях соединительной ткани / М. Ю. Гульнева // Тезисы IV съезда ревматологов России. — Казань, 2005. — С. 33.
2. Данилова Т. Г. Некоторые морфологические аспекты ревматоидного артрита / Т. Г. Данилова, Е. В. Данилова // Фундаментальные исследования. — 2004. — № 1 — С. 105—105.
3. Измайлова М. Х. Клинико-функциональное состояние и морфологические изменения кишечника у больных ревматоидным артритом / М. Х. Измайлова, И. А. Шаповалов, Г. П. Титова // Ревматология. — 1984. — № 4. — С. 44—47.
4. Клинико-цитохимические особенности течения ювенильного ревматоидного артрита в зависимости от провоцирующих факторов и проводимой терапии / Соболева Н. Г. Могильная Г. М., Бойков С. А. [и др.] // Кубанский научн. мед. вестн. — 2005. — № 7—8. — С. 127—129.
5. Насонов Е. Л. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации / Е. Л. Насонов, Д. Е. Каратеев // РМЖ. — 2006. — Т. 14, № 25. — С. 1769—1777.
6. Сизякина Л. П. Некоторые вопросы классификации ювенильного ревматоидного артрита в сопоставлении с иммунологическими исследованиями / Л. П. Сизякина, А. А. Сависько, А. Н. Британов // Мат. науч.-практ. конф. педиатров Юга России. — Ростов-на-Дону, 2003. — С. 73—74.
7. Сигидин Я. А. Новые подходы к анализу патогенеза и патогенетической терапии ревматоидного артрита / Я. А. Сигидин, Г. В. Лукина // Научн.-практ. ревматол. — 2001. — № 5. — С. 4—11.
8. Филиппенкова Н. А. Особенности современного течения ювенильного идиопатического артрита у детей и подростков (клиника, диагностика и лечение) : автореф. дис. канд. мед. наук / Н. А. Филиппенкова. — Самара, 2004. — 23 с.
9. Шахбазян И. Е. Протокол лечения ЮРА / И. Е. Шахбазян, Е. И. Алексеева // Междунар. журн. мед. практики. — 2000. — № 4. — С. 14—18.
10. Effect of sulphasalazine on gastrointestinal microflora and on mucosal heat shock protein expression in patients with rheumatoid arthritis / Kanerud L., Scheynius A., Nord C. E., Hafstrom I. // Rheumatology. — 1994. — Vol. 33. — P. 1039—1048.
11. Immune activation in the small intestine in patients with rheumatoid arthritis / Nissinen R., Leirisalo-Repo M., Nieminen A. M. [et al.] // Annals of the rheumatic diseases. — 2004. — Vol. 63. — P. 1327—1330.
12. Intractable diarrhea associated with secondary amyloidosis in rheumatoid arthritis / Okuda Y., Takasugi K., Oyama T. [et al.] // Annals of the rheumatic diseases. — 1997. — Vol. 56. — P. 535—541.
13. Kanevskaya M. Z. Treatment of early rheumatoid arthritis: influence on parameters of activity and progression in long-term prospective study / M. Z. Kanevskaya, N. V. Chichasova // Annals of the rheumatic diseases. — 2003. — Vol. 67. — P. 179.
14. Mayo Clinic proceedings. — 1988. — Vol. 63. — P. 539—551.
15. Newkirk M. M. Distinct bacterial colonization patterns of Escherichia coli subtypes associate with rheumatoid factor status in early inflammatory arthritis / M. M. Newkirk, A. Zbar, M. Baron // Rheumatology. — 2010. — № 49. — P. 1311—1316.
16. Orchard T. R. Peripheral arthropathies in inflammatory bowel disease: their articular distribution and natural history / T. R. Orchard, B. P. Wordsworth, D. P. Jewell // Gut. — 1998. — Vol. 42. — P. 387—391.
17. Price A. B. Pathology of drug-associated gastrointestinal disease / A. B. Price // Br. J. Clin. Pharmacol. — 2003. — Vol. 56. — P. 477—482.
18. Rainsford K. D. An analysis of the gastro-intestinal side-effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs, with particular reference to comparative studies in man and laboratory species / K. D. Rainsford // Rheumatology international. — 1982. — Vol. 2. — P. 1—10.
19. Small intestinal bacterial overgrowth in patients with rheumatoid arthritis / Henriksson A. E., Blomquist L., Nord C. E. [et al.] // Annals of Rheumatic Diseases. — 1993. — Vol. 52. — P. 503—510.

ОСОБЛИВОСТІ УЛЬТРАСТРУКТУРНИХ ЗМІН СЛИЗОВОЇ ТОНКОГО КИШЕЧНИКУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ АД'ЮВАНТНОГО АРТРИТУ

М.М. Каладзе, Т.Г. Філоненко, О.А. Сизова

ДУ «Кримський Державний Медичний Університет імені С.І. Георгієвського» МОЗ України, м. Сімферополь.

Резюме. Проведено оцінку ультраструктурних змін слизової тонкого кишечника. Визначено характерні зміни ультраструктури компонентів слизової оболонки тонкої кишки при модульованому ад'ювантному артриті, які проявляються переважно дистрофічними та деструктивними процесами в ентероцитах.

Ключові слова: ультраструктура, електронна мікроскопія, тонка кишка, ювенільний ревматоїдний артрит.

THE FEATURES OF ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF SMALL INTESTINE MUCOSA IN EXPERIMENTAL MODELING OF ADJUVANT ARTHRITIS

N.N. Kaladze, T.G. Filonenko O.A. Sizova

SU «S.I. Georgievskiy Crimea State Medical University, Ministry of Health of Ukraine», Simferopol

Summary. The estimation of the ultrastructural changes of the small intestine mucosa is conducted. The characteristic changes of the ultrastructural components of the small intestine mucosa during the modulating adjuvant arthritis which is manifested mainly by degenerative and destructive processes in enterocytes are determined.

Key words: ultrastructure, electron microscopy, small intestine, juvenile rheumatoid arthritis.