

Морфофункциональная характеристика желудка при воздействии тетрабората натрия

А. К. Бердалинова, Т. Ж. Умбетов, Н. Н. Шевлюк*, Г. А. Журабекова
*Западно-Казахстанский государственный медицинский университет им. Марата Оспанова,
 г. Актобе, Казахстан*
 *ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России,
 Оренбург, Россия

Цель работы – исследование морфофункциональной характеристики слизистой оболочки желудка крыс при воздействии тетрабората натрия.

Материал и методы. Объектом исследования служили желудки 50 белых беспородных крыс-самцов. Животные были разделены на 2 группы. Животным 1-й группы однократно внутрижелудочно через зонд вводили тетраборат натрия в дозе LD₅₀ – 5000 мг/кг. Животным 2-й группы внутрижелудочно через зонд ежедневно вводили тетраборат натрия в дозе 1/10 LD₅₀ – 500 мг/кг. Животных 1-й группы выводили из эксперимента через сутки после однократного введения тетрабората натрия, животных 2-й группы – через 7, 14, 21 и 30 сут после начала эксперимента. Полученный материал обрабатывали с использованием обзорных гистологических, гистохимических и иммуноцитохимических методов.

Результаты. При однократном и длительном воздействии тетрабората натрия в слизистой оболочке желудка на фоне отека, застоя форменных элементов крови в сосудах микроциркуляторного русла, умеренной лейкоцитарной инфильтрации, отмечалась очаговая десквамация покровного эпителия, многочисленные деструктивные изменения в покровных и железистых клетках слизистой оболочки желудка, значительная гибель эпителиоцитов, сопровождающаяся снижением секреторной функции слизистых клеток. Деструктивные изменения более выражены при более высокой дозе тетрабората натрия. Повреждение эпителиоцитов приводит к увеличению зоны пролиферативной активности эпителия слизистой оболочки (митозы отмечаются не только в области шейки железы, но и в теле железы и в эпителии желудочных ямок). В собственной пластинке слизистой наблюдается увеличение активности фибробластов.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о негативном воздействии использованных доз тетрабората натрия. Расширение зоны пролиферативной активности эпителия слизистой оболочки желудка, направленное на восстановление структурного гомеостаза, не полностью компенсирует значительную гибель покровных и железистых клеток. Возрастание активности клеток фибробластического дифферона свидетельствует о их большей устойчивости к негативному действию тетрабората натрия в сравнении с эпителиоцитами.

Ключевые слова: крысы, слизистая оболочка желудка, эпителий митотический индекс, регенерация, тетраборат натрия.

© A. K. Berdalina, T. Zh. Umbetov, N. N. Shevlyuk*, G. A. Zhurabekova, 2018
 Marat Ospanov West-Kazakhstan State Medical University, Aktobe, Kazakhstan

*Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

Morphofunctional Characteristics of the Stomach Exposed to Sodium Tetraborate

The *aim* is to study the morphological and functional characteristics of the gastric mucosa of rats exposed to sodium tetraborate.

Material and methods. The object of the study were the stomachs of 50 white male mongrel rats. The animals were divided into 2 groups. Animals of the 1st group once intragastrically through the probe entered the borax in the dose of LD₅₀ – 5000 mg/kg. Animals of the second group intragastrically through a tube daily introduced sodium tetraborate at a dose of 1/10 LD₅₀ – 500 mg/kg. The Animals of the 1st group were withdrawn from the experiment in a day after single administration of sodium tetraborate, animals of the 2nd group – 7, 14, 21 and 30 days after the start of the experiment. The obtained material was treated using histological, histochemical and immunocytochemical methods.

Results. With a single and long-term exposure to sodium tetraborate in the gastric mucosa against the background of edema, stagnation of blood elements in the blood vessels of the microcirculatory bed, moderate leukocyte infiltration, there was focal desquamation of the epithelium, numerous destructive changes in the cover and glandular cells of the gastric mucosa, a significant death of epithelial cells, accompanied by a decrease in the secretory function of mucous cells. Destructive changes are more pronounced at a higher dose of sodium tetraborate. Damage to epithelial cells lead to an increase in the zone of proliferative activity of the epithelium of the mucous membrane (mitoses are noted not only in the neck of the gland, but also in the body of the gland and in the epithelium of gastric pits). In the own plate of the mucous membrane there is an increase in the activity of fibroblasts.

Conclusion. The data obtained indicate a negative impact of the used doses of sodium tetraborate. The expansion of the zone of proliferative activity of the epithelium of the mucous membrane of the stomach, aimed at the restoration of structural homeostasis, is not fully offset with a significant destruction of epithelial and glandular cells. The increase in the activity of fibroblastic differon cells indicates their greater resistance to the negative effects of sodium tetraborate in comparison with epithelial cells

Key words: rats, gastric mucosa, epithelium mitotic index, regeneration, sodium tetraborate.

Введение

Соединения бора имеют широкий спектр физиологических воздействий на биологические системы, при низких концентрациях соединения бора необходимы для роста и развития животных и растений [4, 5, 7]. При высоких концентрациях они токсичны для организма (например, оказывают негативное воздействие на течение эмбрионального развития и репродуктивные процессы) [3, 4, 10]. Основными источниками поступления бора в организмы человека и животных являются пища [8] и, в меньшей степени, вода. По данным Всемирной организации здравоохранения, приемлемый безопасный диапазон для человека был установлен как 1–13 мг бора в день [9]. Бор способен накапливаться в жировой ткани людей и животных, вызывая различные патологические состояния [1, 2, 6].

Несмотря на то, что существует множество исследований биологических эффектов и токсичности бора, многие аспекты его влияния на организм нуждаются в уточнении и дальнейшем изучении.

Целью настоящей работы явилось исследование морфофункциональной характеристики слизистой оболочки желудка крыс в условиях однократного и длительного воздействия тетрабората натрия.

Материал и методы исследования

Объектом исследования служили желудки (за исключением преджелудка) 50 белых беспородных крыс-самцов (25 контрольных, 25 экспериментальных), полученных из вивария лабораторных животных в Научно-практическом центре ЗКГМУ им. Марата Оспанова, массой тела 200–250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария, имеющих свободный доступ к пище и воде. Все экспериментальные процедуры проводили в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [13, 14]. Экспериментальные животные были разделены на 2 группы. Животным первой группы (5 крыс) однократно внутрижелудочно через зонд вводили тетраборат натрия в дозе LD₅₀ – 5000 мг/кг. Контролем служили 5 крыс, которым внутрижелудочно однократно вводили 2 мл физиологического раствора. Животным второй группы (20 крыс) внутрижелудочно через зонд ежедневно вводили тетраборат натрия в дозе 1/10 LD₅₀ – 500 мг/кг. Контролем к этому эксперименту служили 20 крыс, которым вводили внутрижелудочно по 2 мл физиологического раствора. Животных первой группы выводили из эксперимента через сутки после однократного введения тетрабората натрия, особей второй группы –

через 7, 14, 21 и 30 сут после начала введения тетрабората натрия (по 5 крыс на каждую стадию). Контрольных животных выводили из эксперимента в те же сроки (по 5 крыс на каждую стадию). При выведении животных из эксперимента соблюдали все требования Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Материал фиксировали в 12% растворе формалина, обезжизняли в спиртах возрастающей концентрации, заливали в парафин и готовили срезы толщиной 5–7 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином Майера и эозином, по Ван-Гизону. Для гистохимического выявления муцинов использовали ШИК-реакцию с контролем амилазой. На препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, производили подсчет митозов [15]. Митотический индекс определяли по формуле:

$$МИ = N_m / N \quad ,$$

где N_m – число митозов; N – общее количество клеток в исследуемой совокупности (1000).

На срезах проводили иммуноцитохимическое определение экспрессии белка Ki67 (маркера пролиферации) с использованием набора реактивов фирмы «Thermo Scientific», США. Исследования выполняли в соответствии с протоколами фирм изготовителей. О степени экспрессии белка судили на основании подсчета меченых клеток.

Статистическая обработка полученных данных исследования проводилась по программе «STATISTICA-10». Анализ результатов проводился с использованием средней арифметической, ошибки средней, критерия Стьюдента. Значимыми считали различия между средними показателями при P ≤ 0.05.

Результаты и их обсуждение

Анализ препаратов животных первой группы эксперимента показал, что при остром воздействии тетрабората натрия (LD₅₀) в слизистой оболочке желудка наблюдается отек и выраженные деструкция эпителия как в области желудочных ямок, так и желез (рис. 1, 2). Покровный эпителий в области желудочных ямок разрушен почти повсеместно. Наиболее выраженная деструкция эпителиоцитов отмечается в области дна желез. Просветы желез расширены, их диаметр увеличен по сравнению с контролем в 1.4 раза. Более высокую устойчивость к действию тетрабората натрия проявляют обкладочные клетки. Митотическая активность эпителия желудка снижена по сравнению с контролем (табл.). В капиллярах собственной пластинки слизистой оболочки наблюдается стаз форменных элементов. В соединительной ткани слизистой оболочки желудка наблюдается лейкоцитарная инфильтрация, преимущественно

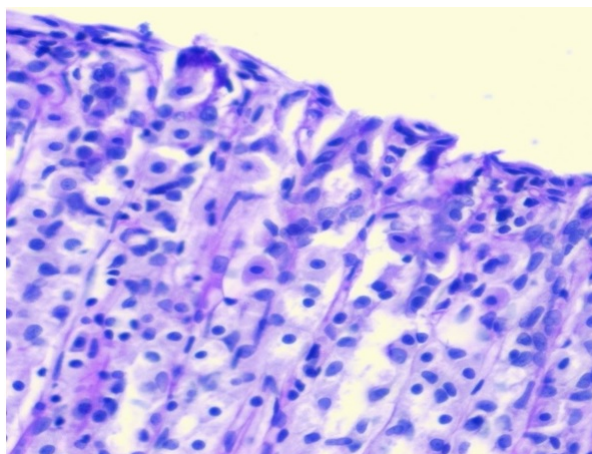


Рис. 1. Слизистая оболочка желудка контрольной крысы. ШИК реакция. Ув. 400.

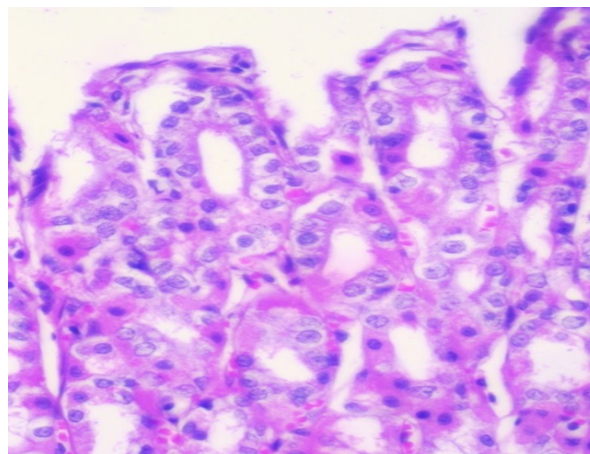


Рис. 2. Слизистая оболочка желудка крысы через 1 сут после однократного воздействия тетрабората натрия в дозе LD₅₀. Окраска гематоксилином Майера и эозином. Ув. 400.

Таблица

Митотическая активность эпителия слизистой оболочки желудка крыс при действии тетрабората натрия

Стадии эксперимента	Индекс митотической активности (%)
Контроль	10.3±0.9
1-е сут (введение тетрабората натрия в дозе LD ₅₀)	5.4±0.7
7-е сут (введение тетрабората натрия в дозе 1/10 LD ₅₀)	7.1±0.5
14-е сут (введение тетрабората натрия в дозе 1/10 LD ₅₀)	7.7±0.6
21-е сут (введение тетрабората натрия в дозе 1/10 LD ₅₀)	8.1±0.5
30-е сут (введение тетрабората натрия в дозе 1/10 LD ₅₀)	8.3±0.7

нейтрофильная. Муцин в слизистой оболочке желудка выявлялся в виде отдельных островков, в основном, в желудочных ямках. В связи с выраженным отеком толщина слизистой оболочки желудка была увеличенной и составляла 699.2 ± 5.8 мкм. У контрольных животных она равнялась 662.4 ± 7.6 мкм.

Анализ препаратов животных 2-й группы эксперимента показал, что на 7-е сут воздействия тетрабората натрия в слизистой оболочке желудка отмечаются отек, множественная очаговая десквамация покровного эпителия и эпителия желез (рис. 3). При этом наибольшее повреждение клеточных структур, как и у животных первой группы, отмечается в покровном эпителии желудочных ямок и в эпителиоцитах дна желез. Митотическая активность эпителия слизистой, наблюдаемая в области шеечной части желез, была низкой (табл.). При этом отмечается наличие единичных митозов и в области тела желез, чего не наблюдалось у контрольных животных. То есть отмечается увеличение зоны пролиферативной активности эпителия слизистой оболочки. Однако, это не компенсирует значительной гибели клеток покровного и железистого эпителия. Просветы желез, особенно в области тела и дна расширены. В железистых клетках отмечается вакуолизация различных клеточных элементов, особенно, обкладочных (париетальных) клеток, где содержатся многочисленные вакуоли, при этом обкладочные

клетки увеличены в размерах по сравнению с контролем (рис. 3).

В собственной пластинке слизистой оболочки наблюдаются застой форменных элементов крови в капиллярах (рис. 3), а также умеренная лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани.

Отмечается возрастание доли фибриллярных структур в соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки, что указывает на увеличение синтетической активности клеток фибробластического дифференца, а также свидетельствует о более высокой устойчивости фибробластов к действию данного экзотоксиканта.

Как в покровных, так и в железистых эпителиоцитах наблюдается умеренное содержание муцина. Толщина слизистой оболочки желудка у экспериментальных животных на 7-е сут принципиально не отличалась от таковой у контрольных особей и составляла 672.8 ± 4.2 мкм.

На 14-е сут эксперимента в слизистой оболочке желудка продолжает сохраняться все вышеперечисленные деструктивные изменения. Митотическая активность эпителия продолжала оставаться более низкой, чем у контрольных крыс, однако митозы отмечались не только в шеечной части желез, но и в их теле. Изменение зоны пролиферативной активности эпителия демонстрирует рис. 4. Данный уровень митотической активности

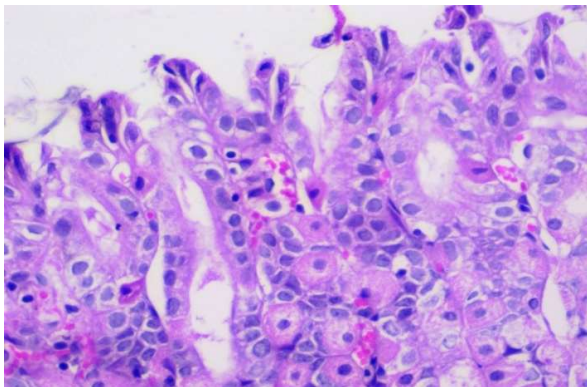


Рис. 3. Слизистая оболочка желудка крысы на 7-е сут эксперимента (введение тетрабората натрия в дозе $1/10 LD_{50}$). Окраска гематоксилином Майера и эозином. Ув. 400

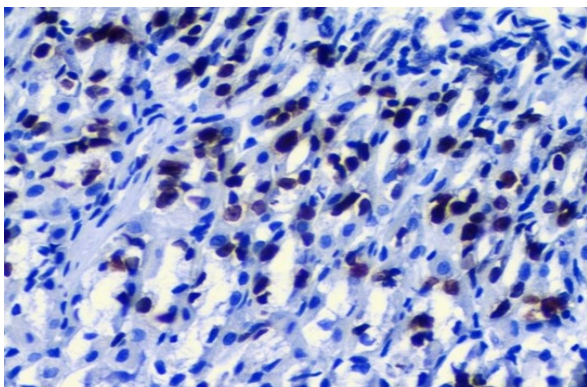


Рис. 4. Слизистая оболочка желудка крысы на 14-е сут эксперимента (введение тетрабората натрия в дозе $1/10 LD_{50}$). Иммуноцитохимическая реакция на выявление Ki67. Ув. 400.

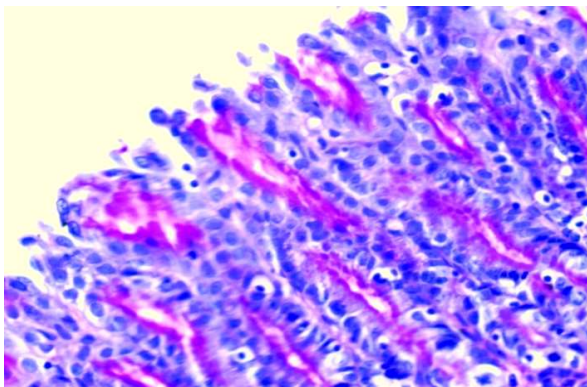


Рис. 5. Слизистая оболочка желудка крысы на 30-е сут эксперимента (введение тетрабората натрия в дозе $1/10 LD_{50}$). ШИК реакция. Ув. 400.

эпителиоцитов не полностью обеспечивал восстановление покровных и железистых эпителиоцитов слизистой оболочки, в результате чего толщина слизистой оболочки на стадиях 14, 21 и 30 сут у экспериментальных животных была меньше, чем у контрольных. Происходит некоторое увеличение доли фибриллярных структур соединительной ткани по сравнению с предыдущим сроком эксперимента. Секретция слизи незначительно повышена по сравнению с предыдущей стадией эксперимента.

На 21-е сут наблюдается снижение отека эпителиальных и соединительнотканых

структур по сравнению с предыдущими стадиями эксперимента. В сосудах микроциркуляторного русла продолжают проявляться стаз форменных элементов крови. Уменьшается выраженность деструкции клеточных элементов эпителия и соединительной ткани по сравнению с предыдущими сроками эксперимента. Наблюдается полиморфизм желез (по значению их диаметра), происходит увеличение среднего диаметра желез, по сравнению с контролем и предыдущими сроками. Умеренная митотическая активность (табл.) по-прежнему регистрируется не только в области шеек желез, но также и в области их тела и дна. Снижение деструкции клеточных элементов и расширение зоны митотической активности свидетельствует о проявлении адаптивных возможностей органа, однако адаптивные возможности эпителиальной ткани не полностью компенсируют возникшие повреждения покровного и железистого эпителия. В собственной пластинке слизистой оболочки наблюдалось дальнейшее возрастание фибриллярных структур (коллагеновых волокон) по сравнению с сроками 7, 14 суток. Образование муцина эпителиоцитами увеличено по сравнению с предыдущими стадиями как проявление компенсаторно-приспособительного процесса в органе в ответ на экстремальное воздействие.

На 30-е сут эксперимента отек слизистой оболочки и деструкции покровного и железистого эпителия желудка выражены слабее по сравнению с предыдущими сроками эксперимента. В сосудах микроциркуляторного русла стаз форменных элементов крови не выявлялся. В соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки наблюдались единичные лейкоциты. Митотическая активность эпителия по-прежнему снижена по сравнению с контролем (табл.), и она отмечается в большей части эпителиального пласта железы (не только в области шейки). В то же время наличие ослабленной очаговой деструкции эпителиального пласта (как покровного, так и железистого) свидетельствует о том, что адаптационных возможностей эпителия желудка недостаточно, для того, чтобы полностью компенсировать повреждение эпителия, вызванное длительным воздействием тетрабората натрия. В эти сроки исследования (30-е сут) выраженность фибриллярных структур собственной пластинки слизистой оболочки оставалась на уровне 21-х сут эксперимента. В мукоцитах отмечен высокий уровень секреции слизи (рис. 5). Толщина слизистой оболочки желудка в этот срок наблюдения составляла 688.8 ± 3.2 мкм.

Как при остром воздействии высокой концентрации тетрабората натрия (LD_{50}), так и при длительном воздействии последнего в дозе $1/10 LD_{50}$ – в сроки 7, 14, 21, 30 сут превышение деструкции, как покровного, так и

железистого эпителия слизистой оболочки желудка над их пролиферацией подтверждает токсичность тетрабората натрия в вышеперечисленных дозах.

Расширение зоны пролиферативной активности эпителиоцитов и активизация синтетической деятельности клеток фибробластического дифферона отражает активация компенсаторных процессов, направленных на сохранение структурного гомеостаза, в ответ на повреждение эпителиального покрова и собственной пластинки слизистой под воздействием тетрабората натрия.

Заключение

При однократном и длительном воздействии тетрабората натрия в слизистой оболочке желудка на фоне отека, застоя форменных элементов крови в сосудах микроциркуляторного русла, умеренной лейкоцитарной инфильтрации отмечались очаговая десквамация покровного эпителия, многочисленные деструктивные изменения в покровных и железистых клетках слизистой оболочки желудка, значительная гибель эпителиоцитов, сопровождающаяся снижением секреторной функции слизистых клеток. Вышеотмеченные деструктивные изменения более выражены в случае воздействия более высокой дозы тетрабората натрия.

Деструктивные изменения в эпителии слизистой оболочки приводят к увеличению зоны пролиферативной активности эпителия слизистой оболочки. Митозы отмечаются не только в области шейки, но и в теле железы, и в эпителии желудочных ямок, чего никогда не наблюдалось в контроле.

Расширение зоны пролиферативной активности эпителия слизистой оболочки желудка, (установленное на основе анализа митотической активности и экспрессии Ki67, тем не менее, не полностью компенсирует значительную гибель покровных и железистых клеток.

Возрастание активности клеток фибробластического дифферона свидетельствует об их большей устойчивости к негативному воздействию тетрабората натрия по сравнению с эпителиоцитами.

Увеличение выделения муцина эпителиоцитами также отражает диапазон компенсаторных возможностей секреторных клеток, свидетельствует об улучшении метаболических процессов в органе в процессе адаптации к действию негативного фактора.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Аргынбаева А. Т., Тойчуев Р. М. Микроэкология кишечника человека при контакте с ядохимикатами (пестицидами), ее нарушения и

коррекция с помощью пробиотических препаратов, сохранение и лечение измененного биотенноза кишечного тракта. Здоровье населения и среда обитания. 2011; 7: 41-45.

2. Шахназаров М. А., Шахназаров А. М., Расулов М. Т., Магомедгаджиев Б. Г., Муджидов А. О. Морфологические и гистохимические изменения печени при ацетатной язве желудка и хроническом воздействии пестицида – гексахлорциклогексина. Юг России: Экология, развитие. 2011; 3: 112-120.
3. Forrest H., Nielsen. Update on human health effects of boron. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2014; 28(4): 383-387.
4. Jnce S., Filazi A., Yirdakok-Dikmen B. Boron. In: Reproductive and Developmental Toxicology (Second Edition). Chapter 30. Boron. 2017: 521-535.
5. Kabu M., Tosun M., Elitok B., Akosman M. S. Histological evaluation of the effects of borax obtained from various sources in different rat organs. J.Morphologia. 2015; 33(1): 255-261.
6. Mostafalou S., Abdollahi M. Concerns of environmental persistence of pesticides and human chronic diseases. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. 2012; 2: 3.
7. Naghii M. R., Sammar S. The effect of boron supplementation on its urinary excretion and selected cardiovascular risk factors in healthy male subject. Biol. Trace Elements Res. 1998; 56: 273-286.
8. Nielsen F. H. The justification for providing dietary guidance for the nutritional intake of boron. Biol. Trace Elements Res. 1998; 66: 319-330.
9. Perland J. G. Dietary boron, brain function and cognitive performance. Environmental Health. 1994; 102(S. 7): 65-72.
10. Uluisik I., Karakaya H. G., Kos A. The importance of boron in biological systems. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2018; 45:156-162.

References

1. Argynbaeva A.T., Tojchuev R.M. Mikrojekologija kishhechnika cheloveka pri kontakte s jadokhimikatami (pestitsidami), ejo narusheniya i korrakcija s pomoshh'ju probioticheskikh preparatov, sohraneniye i lecheniye izmenennogo biotsenoza kishhechnogo trakta [Microecology of the human intestine in contact with toxic chemicals (pesticides), its disturbances and correction with the help of probiotic preparations, preservation and treatment of the altered biocenosis of the intestinal tract]. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya. 2011; 7: 41-45. (in Russian)
2. Shahnazarov M.A., Shahnazarov A.M., Rasulov M.T., Magomedgadzhiev B.G., Mudzhidov A.O. Morfoloicheskie i gistohimicheskie izmeneniya pecheni pri acetatnoj jazve zheludka i hronicheskom vozdejstvii pestitsida – geksahlorciklogeksina [Morphological and histochemical changes of the liver in gastric acetate ulcer and chronic exposure to the pesticide - hexachlorocyclohexin]. Jug Rossii: Jekologiya, razvitie. 2011; 3: 112-120. (in Russian)
3. Forrest H., Nielsen. Update on human health effects of boron. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2014; 28(4): 383-387.
4. Jnce S., Filazi A., Yirdakok-Dikmen B. Boron. In: Reproductive and Developmental Toxicology (Second Edition). Chapter 30. Boron. 2017: 521-535.

5. Kabu M., Tosun M., Elitok B., Akosman M.S. Histological evaluation of the effects of borax obtained from various sources in different rat organs. *J.Morphologia*. 2015; 33(1): 255-261.
6. Mostafalou S., Abdollahi M. Concerns of environmental persistence of pesticides and human chronic diseases. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2012; 2: 3.
7. Naghii M.R., Sammar S. The effect of boron supplementation on its urinary excretion and selected cardiovascular risk factors in healthy male subject. *Biol. Trace Elements Res.* 1998; 56: 273-286.
8. Nielsen F.H. The justification for providing dietary guidance for the nutritional intake of boron. *Biol. Trace Elements Res.* 1998; 66: 319-330.
9. Perland J.G. Dietary boron, brain function and cognitive performance. *Environmental Health*. 1994; 102(S. 7): 65-72.
10. Uluşık I., Karakaya H.G., Kos A.. The importance of boron in biological systems. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2018; 45:156-162.

Сведения об авторах

Бердалинова Акженис Кримгереевна – преподаватель кафедры гистологии Западно-Казахстанского государственного медицинского университета им. Марата Оспанова. E-mail: berdalina77@mail.ru. 030012, Казахстан, г. Актобе, ул. Маресьева, 68.

Умбетов Туракбай Жетенович – д-р мед. наук, профессор, академик АМН РК, профессор кафедры гистологии Западно-Казахстанского государственного медицинского университета им. Марата Оспанова.

Шевлюк Николай Николаевич – д-р биол. наук, профессор, заслуженный работник высшей школы РФ, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: k_histology@orgma.ru.

Журабекова Гульмира Атагуловна – и.о. руководителя кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией Западно-Казахстанского государственного медицинского университета им. Марата Оспанова.

Поступила в редакцию 5.09.2018 г.

Для цитирования: Бердалинова А.К., Умбетов Т.Ж., Шевлюк Н.Н., Журабекова Г.А. Морфофункциональная характеристика желудка при воздействии тетрабората натрия. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2018; 7(4): 27–32. doi: 10.18499/2225-7357-2018-7-4-27-32.

For citation: Berdalina A.K., Umbetov T.Zh., Shevlyuk N.N., Zhurabekova G.A. Morphofunctional characteristics of the stomach exposed to sodium tetraborate. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2018; 7(4): 27–32. doi: 10.18499/2225-7357-2018-7-4-27-32.