

УДК 611–018.2:611.33–053.8/.9
© Коллектив авторов, 2016
doi: 10.18499/2225-7357-2016-5-4-36-40

ВОЗРАСТНАЯ МОРФОЛОГИЯ ПАРАВАЗАЛЬНОЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПОЛЫХ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

В. В. Никель, В. П. Ефремова, П. А. Самотесов, Н. А. Малиновская
ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, г. Красноярск, Россия

При помощи стандартных гистологических, гистохимических и иммуногистохимических методик проведено изучение компонентного состава паравазальной соединительной ткани полых органов пищеварительной системы (желудка и подвздошной кишки) мужчин трех возрастных групп (первого периода зрелого возраста, пожилого и старческого возрастов). Установлено, что с возрастом в структуре паравазальной соединительной ткани увеличивается процентное содержание волокнистого компонента, а среди волокон в значительной мере преобладают коллагеновые. Описана пространственная ориентация волокнистой стромы паравазальной соединительной ткани.

Ключевые слова: желудок, подвздошная кишка, паравазальная соединительная ткань, первый период зрелого возраста, пожилой возраст, старческий возраст, апоптоз, пролиферация.

© The authors, 2016

Krasnoyarsk V.F. Voino-Yasenetsky State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

Age-related Morphology of Paravasal Connective Tissue of Digestive Tract Hollow Organs

Using standard histological, histochemical and immunohistochemical techniques the composition of paravasal connective tissue components of digestive system hollow organs (stomach and ileum) have been studied in men of three age groups (the first period of mature age, elderly age and senium). It was found that the percentage of the fibrous component of paravasal connective tissue increases with age, and is largely prevalent among the collagen fibers. The spatial orientation of the fibrous stroma paravasal connective tissue is described.

Keywords: stomach, ileum, paravasal connective tissue, the first period of mature age, elderly age, senium, apoptosis, proliferation.

Введение

Пищеварительная система наиболее подвержена влиянию факторов среды, характера, а также способа питания. Желудочно-кишечный тракт представляет собой физиологическую систему, между частями которой имеется строгая координация и преемственность [3, 14]. В сложной и многогранной работе, выполняемой пищеварительным аппаратом, а в частности, желудком и тонкой кишкой, большая роль принадлежит сосудистой системе – интраорганному руслу, непосредственно участвующему в процессах обмена веществ в стенке органа [6, 10]. Желудок и подвздошная кишка – органы пищеварительной системы с многочисленными и разнообразными функциями, такими как секреторная, экскреторная, инкреторная, всасывательная, моторная, барьерная и заместительная [9].

Изучение структурной организации соединительнотканного каркаса сосудистой стенки и окружающей его ткани этих органов на этапах постнатального онтогенеза имеет важное значение, в связи с тем, что их кровоснабжение и функция находятся в прямой зависимости [5].

Если учесть многообразие обменных процессов, осуществляющихся при непосредственном участии соединительной ткани, неоднородность ее морфологических изменений при различных патологических процессах [2,

11, 12] и неоспоримый факт изменения соединительнотканых элементов как самой сосудистой стенки, так и паравазальной соединительной ткани, сочетающихся с особенностями гемодинамики в различные периоды онтогенетического цикла [1, 8], невозможно переоценить роль паравазальной соединительной ткани в регуляции функциональной системы внутренних органов. В связи с этим, была сформулирована цель исследования: изучить возрастную морфологию паравазальной соединительной ткани желудка и подвздошной кишки в первом периоде зрелого возраста, в пожилом и старческом возрастах.

Материал и методы исследования

Для проведения исследования были выбраны желудок и подвздошная кишка. Желудок представляет собой мешковидное расширение пищеварительной трубки, характеризуется ритмичной перистальтикой и имеет богатую сосудистую сеть, формирующую артериальное кольцо. Подвздошная кишка кровоснабжается многочисленными прямыми артериями, ответвляющимися от множества коротких артериальных дуг.

Забор органов производился от 80 трупов мужчин трех возрастных групп: первого периода зрелого возраста (по 20 органов), пожилого (по 30 органов) и старческого (по 30 органов) возрастов, умерших от ненасильст-

венной смерти с быстрым темпом умирания, от причин, не связанных с заболеваниями органов пищеварительной системы. Забор органов производился не позднее 24 часов после констатации факта смерти.

Изготовление гистотопограмм и гистологических препаратов проводилось по стандартным гистологическим методикам с применением окрасок: гематоксилином и эозином (обзорный метод окраски), резорцин-фуксином (по Вейгерту, для выявления эластических волокон), по Маллори (окрашивание коллагеновых и ретикулярных волокон). Выявление гликозаминогликанов проводилось толудиновым синим при рН = 2.8 и 4.6 с использованием в качестве контроля метилирования и деметилирования. Гликопротеины выявляли ШИК-реакцией, контроль проводился ацетилированием и деацетилированием. Для изучения морфологии гистологических срезов применяли световой микроскоп при стандартном увеличении $\times 175$ на шестиугольной решетке с 25 точками.

Для подтверждения возрастных преобразований, происходящих с волокнистыми элементами, было проведено исследование по изучению апоптоза и пролиферации в клетках паравазальной ткани, в частности фибробластов. С целью изучения активности процесса апоптоза применялась методика TUNEL для парафиновых блоков согласно протоколу фирмы изготовителя с определением индекса апоптоза (ИА) клеток по соответствующей формуле. Метод TUNEL позволяет обнаружить разрывы ДНК, при этом 3'-ОН концы помечаются искусственно синтезированными нуклеотидами с помощью фермента TdT [7]. Идентификация клеток паравазальной соединительной ткани, находящихся в состоянии пролиферации, проводилась при помощи иммуногистохимических реакций путем выявления экспрессии белка Ki-67 (клон М1В-1), который является наиболее специфичным маркером пролиферации согласно протоколу фирмы изготовителя с последующим определением индекса пролиферации (ИП) [4, 13].

Все проведенные исследования выполнены с соблюдением этических принципов (протокол №24/2010 заседания локального этического комитета ГОУ ВПО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» от 14.05.2010 г.)

Все полученные количественные данные подвергались необходимой статистической обработке с помощью компьютерной программы «Statistica 6.0 for Windows». Статистический анализ включал в себя методы описательной статистики. Учитывая малый объем выборки ($n=20$), применялись непараметрические методы описательной статистики с определением медианы (Me), верхнего (C_{25}) и нижнего (C_{75}) квартилей.

Для сравнения показателей двух исследуемых групп использовался U-критерий Mann-Whitney. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$. Для анализа нескольких независимых выборок использовался метод множественных сравнений Н-критерий Крускала-Уоллиса (Kruskal-Wallis test).

Для оценки межгрупповых различий распределения относительных долей ИА и ИП применяли непараметрический критерий хи-квадрат (χ^2). После расчета данного критерия по стандартным таблицам находили критическое значение χ^2 с учетом количества степеней свободы, отдельно для каждой группы сравниваемых признаков. Если полученное эмпирическое значение χ^2 было больше критического – различия признавали статистически значимыми.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что вокруг кровеносных сосудов четвертого-пятого порядка полых органов определяется зона паравазальной соединительной ткани, в которой можно условно выделить два слоя: «центральный», расположенный непосредственно вокруг стенки кровеносного сосуда, и «периферический», расположенный на удалении от кровеносного сосуда.

При изучении структуры «центрального» слоя паравазальной соединительной ткани стенки желудка выявлены четкие различия в зависимости от типа сосуда. В первом периоде зрелого возраста, когда соединительная ткань является морфологически и функционально стабильной, ширина «центрального» слоя паравазальной соединительной ткани сосудов артериального типа почти в 2 раза больше по сравнению с венами – 43.50 мкм [30.50; 51.00] и 22.25 мкм [19.50; 27.50] соответственно. В пожилом и, особенно, в старческом возрасте эти показатели существенно увеличиваются. При этом «центрально» расположенная паравазальная соединительная ткань артерий, по-прежнему, выражена лучше, чем у сосудов венозного типа. Также во всех возрастных группах сохраняется закономерность – чем больше диаметр сосуда, тем шире центральный слой паравазальной соединительной ткани.

«Центральный» слой паравазальной соединительной ткани внутриорганных сосудов стенки желудка плотно прилежит к их адвентициальной оболочке. Данный факт актуален как для артериальных сосудов, так и для венозных. При этом, и в пожилом, и в старческом возрастах на некоторых участках регистрируется определенное сращение волокон паравазальной соединительной ткани с наружным слоем сосудистой стенки.

Тенденции возрастных изменений структурной организации межклеточного матрикса «центрального» слоя паравазальной соединительной ткани стенки желудка являются однотипными с другими органами, а именно, характеризуются увеличением волокнистого компонента от 60.20% [59.01; 63.43] в первом зрелом возрасте до 72.58% [73.53; 75.08] к пожилому возрасту и 83.16% [80.74; 85.62] к старческому (H=69.45; $p < 0.001$). Доля основного вещества соответственно уменьшается с возрастом.

Среди волокнистой стромы преобладают коллагеновые волокна, доля которых от первого зрелого до старческого возраста увеличивается от 58.77% [57.53; 61.14] до 83.16% [80.74; 85.32] (H=69.45; $p < 0.001$), и они обладают интенсивной фуксинофилией, наиболее ярко выраженной в старческом возрасте. Коллагеновые волокна присутствуют по всей ширине «центрального» слоя паравазальной соединительной ткани, но в первом зрелом возрасте наибольшая их концентрация определяется вокруг сосудов венозного типа, в непосредственной близости к адвентициальной оболочке. Также в качестве закономерности возрастной изменчивости коллагеновых волокон можно отметить утолщение их пучков и сокращение расстояния между волокнами.

Доля волокон эластического типа в «центрально» расположенном слое паравазальной соединительной ткани внутриорганных кровеносных сосудов желудка в первом периоде зрелого возраста составляет 22.24% [21.00; 23.78] и достоверно не изменяется к пожилому возрасту (19.10% [18.43; 19.90]). Только после 75 лет содержание эластических волокон значительно снижается до 12.14% [11.62; 12.76] (H=68.09; $p < 0.001$).

Эластические волокна распределены по всей ширине слоя паравазальной соединительной ткани, однако в пожилом и старческом возрастах наибольшая их концентрация выявлена около сосудистой стенки (независимо от типа сосуда), в то время как в первом зрелом возрасте в сосудах венозного типа они сконцентрированы в большей степени в «периферических» отделах.

Ретикулярные волокна, доля которых в первом зрелом возрасте составляет 18.07% [16.16; 19.47], распределены равномерно по всей ширине «центрального» слоя паравазальной соединительной ткани. К пожилому возрасту содержание их уменьшается почти в два раза – до 9.58% [8.85; 10.18], а к старческому становится минимальным – 5.53% [5.07; 6.28] (H=69.44; $p < 0.001$).

Гистохимическая картина основного вещества межклеточного матрикса в первом зрелом возрасте характеризуется слабой интенсивностью метахромазии, которая полностью отсутствует в пожилом и старческом возрастах, а также выраженной ШИК-

позитивной реакцией, несколько снижающейся с возрастом.

В паравазальной соединительной ткани, расположенной на отдалении от кровеносных сосудов желудка, в первом периоде зрелого возраста содержание волокнистого компонента составляет 63.66% [60.75; 65.75], основного вещества – 36.34% [34.26; 39.26]. В последующих возрастных группах доля волокон увеличивается до 74.60% [72.47; 76.35] и 85.39% [84.08; 87.33] в пожилом и старческом возрастах соответственно (H=69.45; $p < 0.001$). Объем основного вещества в указанных возрастных группах соответственно снижается до 25.40% [23.65; 27.53] и 14.61% [12.67; 15.95] (H=69.45; $p < 0.001$).

В волокнистом компоненте преобладающими являются коллагеновые волокна, которые независимо от возраста не имеют четко упорядоченного расположения. При этом закономерности возрастной трансформации коллагеновых волокон оказались ожидаемыми: доля их возрастает от 64.63% [61.35; 62.12] до 85.34% [83.15; 86.23] (H=69.22; $p < 0.001$), толщина пучков увеличивается от 14.05 мкм [12.00; 15.85] в первом периоде зрелого возраста до 46.20 мкм [36.50; 50.00] к старческому возрасту (H=63.11; $p < 0.001$). Содержание эластических волокон в структуре «периферического» слоя паравазальной соединительной ткани стенки желудка уменьшается постепенно от первого зрелого возраста до пожилого (21.72% [20.01; 23.10] и 18.04% [17.08; 19.50] соответственно (U=82.00; $p < 0.001$)). За период от пожилого до старческого возраста снижение эластических волокон более интенсивное, до 12.07% [10.12; 12.83] (U=9.00; $p < 0.001$). Данный вид волокон с возрастом теряет характерную для них извитость, толщина их уменьшается. Аналогичный характер возрастной изменчивости присущ и ретикулярным волокнам.

Расстояние между волокнами в структуре «периферического» слоя паравазальной соединительной ткани желудка за период от первого зрелого до пожилого возраста практически не изменяется, сокращение этого расстояния в 2.2 раза по сравнению с предыдущей возрастной группой характерно для старческого возраста. Основное вещество межклеточного матрикса паравазальной соединительной ткани, расположенной на отдалении от кровеносных сосудов желудка, характеризуется снижением интенсивности ШИК-реакции в пожилом и старческом возрастах по сравнению с первым зрелым.

«Центральный» слой паравазальной соединительной ткани подвздошной кишки хорошо определяется как вокруг артерий, так и вокруг вен. Однако в отличие от аналогичных структур желудка, в подвздошной кишке разница в ширине слоя паравазальной соединительной ткани в зависимости от типа крове-

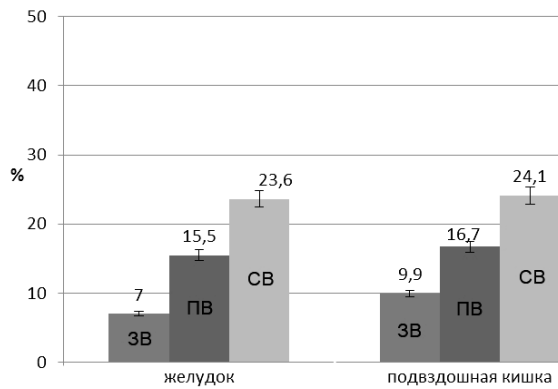


Рис. 1. Индекс апоптоза фибробластов паравазальной соединительной ткани полых органов в различные периоды онтогенеза. Обозначения: ЗВ – 1-й период зрелого возраста, ПВ – пожилой возраст, СВ – старческий возраст.

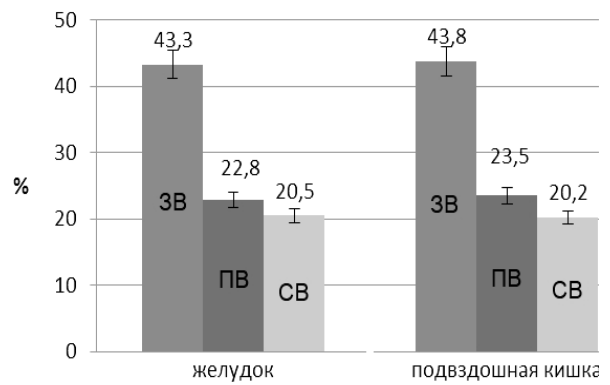


Рис. 2. Индекс пролиферации фибробластов паравазальной соединительной ткани полых органов в различные периоды онтогенеза. Обозначения: ЗВ – 1-й период зрелого возраста, ПВ – пожилой возраст, СВ – старческий возраст.

носного сосуда не столь очевидна в первом периоде зрелого возраста. Отмечено лишь незначительное преобладание ширины слоя «центрально» расположенной паравазальной соединительной ткани в сосудах артериального типа. Однако в пожилом возрасте различия между артериями и венами по степени выраженности паравазальной соединительной ткани усугубляются – вокруг артерий ее толщина увеличивается, а вокруг вен, напротив, становится почти в 3 раза уже. В старческом возрасте для сосудов венозного типа изменения ширины «центрального» слоя паравазальной соединительной ткани не характерно. Независимо от возраста паравазальная соединительная ткань, расположенная непосредственно вокруг кровеносных сосудов подвздошной кишки, плотно прилежит к адвентициальной оболочке сосуда.

В первом периоде зрелого возраста соотношение волокнистого компонента и основного вещества составляет 62.42% [52.96; 55.93] и 37.58% [37.64; 39.03] соответственно. Количественный состав волокон в данной возрастной группе выглядит следующим образом: коллагеновые – 54.53% [53.62; 54.93], эластические – 25.17% [24.67; 25.98], ретикулярные – 20.38% [19.65; 29.74].

Возрастные изменения структурной организации «центрального» слоя паравазальной соединительной ткани стенки подвздошной кишки характеризуются общими для многих органов тенденциями, а именно, изменением количественного соотношения коллагеновых, эластических и ретикулярных волокон в сторону увеличения доли коллагеновых. Отмечаются выраженные преобразования их структурной организации в виде утолщения коллагеновых волокон, сокращения расстояния между волокнами, истончения эластических волокон и потери их извитости, истончения ретикулярных волокон.

Гистохимические особенности «центрально» расположенной паравазальной соединительной ткани подвздошной кишки вы-

ражаются в интенсивной фуксинофилии волокон, несколько уменьшающейся в пожилом возрасте и выраженной ШИК-позитивной реакции при слабой метахромазии основного вещества межклеточного матрикса, также ослабевающей с возрастом.

На отдалении от стенки кровеносного сосуда структура паравазальной соединительной ткани подвздошной кишки в первом периоде зрелого возраста представлена в виде тяжелой коллагеновых волокон, скрученных по спирали и распределенных в различных направлениях относительно сосуда и «центрально» расположенной паравазальной соединительной ткани.

В данном возрастном периоде доля коллагеновых волокон составляет 65.14% [62.61; 67.24], в пожилом возрасте – увеличивается до 75.51% [73.80; 78.00], а в старческом – достигает 83.56% [82.54; 86.32] ($N=69.45$; $p<0.001$). Соответственно доля эластических и ретикулярных волокон пропорционально уменьшается. Наряду с этим установлено существенное сокращение расстояния между волокнами. В первом периоде зрелого возраста данный показатель составляет 17.85 мкм [16.00; 21.50], в пожилом возрасте он сокращается до 9.55 мкм [8.50; 10.80], а в старческом – до 5 мкм [4.00; 5.00] ($N=67.99$; $p<0.001$). Гистохимические особенности «периферического» слоя паравазальной соединительной ткани подвздошной кишки аналогичны «центральному» слою. При определении апоптотической активности клеток паравазальной ткани (фибробластов) было установлено, что в подвздошной кишке ИА составляет $9.85 \pm 1.12\%$, а в желудке – $6.97 \pm 0.49\%$ ($\chi^2=0.89$) (рис. 1).

Возрастная изменчивость ИА в фибробластах паравазальной ткани желудка и подвздошной кишки характеризуется постепенным нарастанием данного индекса к пожилому и старческому возрастам (рис. 1).

ИП фибробластов паравазальной соединительной ткани изучаемых полых орга-

нов характеризуется совершенно противоположными темпами возрастной изменчивости на этапах постнатального онтогенеза.

В первом периоде зрелого возраста ИП в исследуемых органах находится на одном уровне в клетках паравазальной ткани полых органов пищеварительной системы (рис. 2).

С возрастом интенсивность клеточной пролиферации снижается, причем в пожилом возрасте достоверных различий в значении индекса установлено не было (рис. 2).

Установлено, что клетки паравазальной ткани полых органов сохраняют высокую пролиферативную активность даже к старческому возрасту (рис. 2).

Выводы

Кровеносные сосуды полых органов окружены слоем паравазальной соединительной ткани с достаточно высоким содержанием эластических волокон, что приводит к формированию достаточно выгодных функциональных условий, сращения волокон с адвентициальной оболочкой сосуда в пожилом и старческом возрастах практически не встречается.

Таким образом, следует полагать, что кровеносные сосуды полых органов находятся в оптимальном положении, т.к. в их соединительнотканном комплексе сохраняется достаточно большое количество эластических волокон, размер пучков коллагеновых волокон увеличивается незначительно, и, самое главное, не происходит сращения волокон «центрального» слоя паравазальной соединительной ткани с сосудистой стенкой.

Вместе с тем, высокий уровень пролиферативной активности в клетках паравазальной соединительной ткани полых органов пищеварительной системы (желудке и подвздошной кишке) при среднем уровне апоптотической активности в старческом возрасте на уровне средних значений ИА свидетельствует о больших пролиферативных возможностях, которые увеличивают шанс образования клеток с поврежденной ДНК и, как следствие, возможно возникновение «злокачественных» мутаций, которые, в свою очередь, приводят к опухолевой трансформации.

Список литературы

1. Байкова О. А. Клинические аспекты неинвазивной диагностики в современной гастроэнтерологии / О. А. Байкова // Сибирское медицинское обозрение. 2012. № 4 (76). С. 98–103.
2. Боякова Н. В. Современные подходы к хирургическому лечению рака желудка / Н. В. Боякова // Сибирское медицинское обозрение. 2015. № 5 (95). С. 99–104.
3. Добрынина И. В. Нуклеопротеидный и белковый обмен соединительной ткани стенки тонкой кишки в эмбриогенезе / И. В. Добрынина,

- Л. П. Тельцов, Н. Н. Карпушкина // Морфология. 2006. № 5. С. 41.
4. Моргун А. В. Прогностическое значение индекса Ki-67 при опухолях головного мозга / А. В. Моргун, А. Б. Салмина // Вопросы современной педиатрии. 2006. Т. 5, № 1. С. 390.
5. Морфология паравазальных структур в зоне бифуркации сонной артерии / Е. В. Белоусов [и др.] // Морфология. 2002. Т. 121, № 2–3. С. 21.
6. Некрасова И. Л. Особенности микрогемодикуляции в слизистой оболочке желудка при хроническом гастрите / И. Л. Некрасова, В. Г. Шестакова, М. Ю. Фадеев // Морфология. 2013. Т. 144, № 5. С. 99–100.
7. Поморгайло Е. Г. Апоптоз и канцерогенез толстой кишки / Е. Г. Поморгайло // Омский научный вестник. 2000. Вып. II. С. 129–134.
8. Поморгайло Е. Г. Морфологическая характеристика слизистой оболочки желудка подростков при инфицировании различными штаммами *Helicobacter pylori* / Е. Г. Поморгайло, Е. А. Александрова // Сибирское медицинское обозрение. 2014. № 3 (87). С. 33–38.
9. Соотношение свойств темперамента с показателями функциональной активности желудочно-кишечного тракта / О. Г. Солдатова [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. 2012. № 3 (75). С. 54–56.
10. Branford W. W. Regulation of gut and heart left-right asymmetry by context-dependent interactions between xenopus lefty and BMP4 signaling / W. W. Branford, J. J. Essner, H. J. Yost // Dev. Biol. 2000. Vol. 223, № 2. P. 291–306.
11. Endothelial cell seeding of polymeric vascular grafts / K. J. Pawlowski [et al.] // Front. Biosci. 2004. Vol. 9. P. 1412–1421.
12. Fibroblast as a helping factor of collagenolysis in periodontal disease of diabetic patients / L. G. Kesic [et al.] // Acta Stomatologica Naissi. 2005. Vol. 21. P. 365–370.
13. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential / R. Yerushalmi [et al.] // Lancet Oncol. 2010. Vol. 11, № 2. P. 174–183.
14. Opitz J. M. Comments on biological asymmetry / J. M. Opitz, A. Utkus // Am. J. Med. Genet. 2001. Vol. 101, № 4. P. 359–369.

Сведения об авторах

Никель Виктория Викторовна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры анатомии и гистологии человека ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России. 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1.

Ефремова Влада Петровна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры анатомии и гистологии человека ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России. 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1.

Самотесов Павел Афанасьевич – д-р. мед. наук, профессор, профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России. 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1.

Малиновская Наталия Александровна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России. 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1.

Поступила в редакцию 23.05.2016 г.