

ЭНТЕРАЛЬНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ ПРИ ГАСТРОЭНТЕРИТАХ

В. В. Малашко¹, А. М. Казыро¹, Н. К. Гойлик¹, А. В. Башура¹,
В. Г. Гольнец², Али Омар Хуссейн Али¹, В. Т. Бозер³,
Д. В. Малашко⁴

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

² – главный ветеринарный врач Государственного пограничного
комитета Республики Беларусь.

³ – РУК «Гродненский зоологический парк»,
г. Гродно, Республика Беларусь

⁴ – УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Горки, Могилевская область, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 15.06.2015 г.)

Аннотация. Изучены ультраструктурные изменения в слизистой оболочке тонкого кишечника телят и поросят при гастроэнтеритах. Энтеральная недостаточность развивается на фоне повреждения клеточных мембран энтероцитов, повышения проницаемости кровеносных сосудов. В результате изменения микроциркуляции возникает дискорреляция кровоснабжения, метаболизма функции тонкого кишечника. Развивающаяся ишемия приводит к поражению слизистой оболочки. Нарушается равномерность распределения капилляров, появляются малосудистые зоны, увеличивается число петлевидных конструкций обменных сосудов, расстояние между капиллярами увеличивается до 85-105 мкм, при физиологической норме – 45-65 мкм.

Summary. The ultrastructural changes in the mucosa of the small intestine of calves and piglets for gastroenteritis have been studied. Interalia insufficiency develops against the backdrop of damage of enterocytes cell membranes and increased permeability of blood vessels. Decorrelation of blood supply and metabolic function of the small intestine occurs as a result of microcirculation changes. Developing ischemia leads to lesion of the mucosa. The uniformity of capillaries distribution is violating, low-vascular zones appear, the number of looplike constructions of exchange vessels increases, the distance between the capillaries increases to 85-105 microns, while the physiological norm is 45-65 microns.

Введение. Изучению этиологии и патогенеза энтеритов новорожденных животных до сих пор многие исследователи продолжают придавать большое значение, потому что данные заболевания и в настоящее время являются основной причиной падежа молодняка сельскохозяйственных животных [1]. Основные функции тонкого кишечника сводятся к перевариванию (расщеплению) пищевых полимеров и вса-

сыванию (транспорту через кишечную стенку) образовавшихся при этом более простых веществ.

Кроме давно известной пищеварительной функции в последнее время было выяснено, что кишечник играет важную роль в иммунных процессах, является органом, где синтезируется ряд пептидных гормонов. При нарушениях деятельности тонкой кишки, не только страдают ее прямые функции, но возникают определенные иммунные сдвиги, происходят изменения в синтезе дигестивных гормонов и другие расстройства [2].

Нарушения функций тонкой кишки возникают как при патологии этого отдела пищеварительной трубки, так и при различных заболеваниях других систем. Морфологические изменения тонкой кишки при бактериальной патологии сопровождаются выраженной ворсинчатой атрофией. Ворсинки на начальных этапах заболевания укорочены и уплощены, в дальнейшем они могут полностью исчезать, крипты углубляются [3]. Слизистая оболочка не всегда бывает истончена по причине того, что гипертрофия крипт как бы компенсирует отсутствие ворсинок. Снижается коэффициент высота ворсинок/глубина крипт (в норме 4:1). Уменьшается количество энтероцитов, нарушается их дифференциация. Значительно изменяется и ультраструктура энтероцитов. Микроворсинки становятся короткими, широкими, набухшими, теряется их регулярное расположение, число их уменьшается, возникают выраженные изменения клеточных органелл, истончается щеточная кайма, иногда отсутствует базальная мембрана эпителиоцитов [4]. В то же время в отличие от эпителиальных клеток, покрывающих ворсинки тонкой кишки, структура крипальных клеток остается нормальной.

Вследствие предполагающегося дефицита специфических пептидаз страдает мембранная фаза пищеварения. С этих позиций заболевание можно рассматривать как «болезнь мембранного пищеварения». Нарушаются и другие этапы пищеварительных процессов (полостное пищеварение и, вероятно, гетерофазное пищеварение в зоне поверхностных слизистых наложений).

Вследствие токсического действия непереваренных продуктов повреждаются клеточные структуры, ответственные за процессы абсорбции. Помимо целлолярной фазы абсорбции страдают и другие звенья. Нарушается билиарная фаза пищеварения и всасывания, совершающаяся с участием желчных кислот, способствующих образованию мицелл – транспортных форм липидов. В кишечнике создается дефицит желчных кислот – биологически активных детергентов, вследствие чего снижается способность к образованию мицелл [5].

Дефицит ферментов носит вторичный характер, он возникает вследствие атрофии слизистой оболочки кишечника, непосредственное тормозящее действие на энзимы могут оказывать продукты неполного переваривания. Тяжелые нарушения всасывательной функции коррелируют со значительным снижением активности в слизистой оболочке тонкой кишки одного из главных транспортных энзимов натрий-калий-зависимой АТФазы. В период обострения болезни она снижается на 60%, одновременно нарастает активность аденилатциклазы – важного медиатора секреторных процессов в кишечнике [6]. В кишечном химусе находятся вещества, обладающие секретогенным действием. Это желчные кислоты (диоксихолановые) и жирные кислоты. В физиологических условиях их секреторный эффект невелик.

При поражении дистальных отделов подвздошной кишки, при малабсорбции желчных кислот, когда они в повышенных количествах попадают в толстый кишечник, происходит усиление секреции в этом отделе кишечника и возникает диарея, т. к. желчные кислоты стимулируют активность толстокишечной аденилатциклазы. Невсосавшиеся жирные кислоты также оказывают секретогенное действие, что является механизмом диареи при бактериальных инфекциях [7]. Помимо нарушений транспорта воды и электролитов другим важнейшим механизмом диареи являются расстройства кишечной моторики. Моторная функция тесно связана с интестинальной абсорбцией, с секрецией воды и электролитов в тонком и толстом кишечнике [8, 9].

В связи с многообразием патогенетических факторов в развитии гастроэнтеральной патологии в последнее время считают, что большую роль играет сосудистый фактор, обеспечивающий трофику, физиологическую регенерацию и защиту слизистой оболочки пищеварительного тракта. Решающее значение в обеспечении трофики тонкого кишечника имеют его васкуляризация, состояние микроциркуляции и общего кровообращения [10, 11, 12].

Микроциркуляторная система всегда реагирует на воздействие патогенного фактора как единая целостная система.

Видимо, это можно объяснить тем, что сосуды микроциркуляции принимают на себя первый удар патогенного фактора и первыми обеспечивают тот или иной сосудистый ответ органа или ткани. Стенки сосудов микроциркуляторного русла являются местом фиксации иммунных комплексов, оказывающих лейкотоксическое и цитопатическое действие, что и служит пусковым механизмом в развитии микровакулитов, характерных для ряда заболеваний [13].

Цель работы: выявление структурной перестройки тонкого кишечника телят и поросят при гастроэнтеритах бактериальной этиологии.

Материал и методика исследований. Биоптаты тонкого кишечника поросят в 15-35-дневном возрасте (n=12; 7 – интактных и 5 – больных колиэнтеритом) и 5 телят 30-40-дневного возраста фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалином, жидкости Карнуа и фиксаторе ФСУ Бродского. Для изучения микроциркуляторного русла тонкого кишечника использовали методы импрегнации азотнокислым серебром по Рассказовой, гематоксилин – эозин. Срезы готовили на ротационном микротоме МПС-2 и МС-2 толщиной – 5-8 мкм и на микротоме-криостате МК-25 толщиной 8-10 мкм. Для электронно-микроскопического исследования брали соответствующие участки тонкого кишечника около 3-6 см, которые были лигированы, и интравенно вводится методом диффузии 2%-й раствор глутарового альдегида. В последующем ткани помещали в 5%-й раствор глутарового альдегида на 2 часа. Глутаровый альдегид готовился на 0.1 М фосфатном буфере рН 7.2-7.4 и фиксировали при t+4°C. Затем делали вертикальные разрезы по отношению к оси кишки и изготавливали кубики с длиной края 1-1,5 см. После 3-кратной промывки в 0,1 М фосфатном буфере, материал обрабатывали 2%-м раствором четырехоксида осмия, дегидрировали в спиртах возрастающей концентрации, контрастировали уранил ацетатом и заключали в аралдит. Срезы готовили на ультрамикротоме ЛКБ (Швеция), контрастировали цитратом свинца и просматривали под микроскопом JEM-100CX (Япония).

Результаты исследований и их обсуждение. Соответственно патогенетическим механизмам выделяются различные типы диареи: 1) осмотическая диарея, 2) секреторная диарея, 3) диарея вследствие торможения абсорбции ионов, 4) диарея вследствие расстройства кишечной моторики. При осмотической диарее первично наступает повышение осмолярности интестинального химуса, вследствие увеличения содержания в полости кишечника осмотически активных веществ (например, органических кислот при дефиците лактазы), что в свою очередь приводит к усилению секреции.

При секреторной диарее патогенный фактор первично действует на транспорт воды и электролитов в кишечнике. При малабсорбции желчных кислот, при нарушениях всасывания липидов, накопившихся в кишечнике, невсосавшиеся вещества стимулируют секрецию воды и электролитов. Нарушения моторики тесно связаны с транспортными расстройствами. Однако чаще всего диарея при энтеральной недостаточности обусловлена несколькими патогенетическими механизмами.

Наши наблюдения показывают, что энтеральные поносы в зависимости от локализации патологического процесса в проксимальных или дистальных отделах тонкого кишечника имеют свои особенности.

При еюнитах, когда ведущим патогенетическим фактором диареи является накопление в кишечнике неабсорбированных жирных кислот, поносы бывают нечастые. Фекальные массы обычно обильные, кашицеобразные, глинистого цвета.

При поражении дистальных отделов подвздошной кишки, когда ведущим патогенетическим фактором диареи являются нарушения всасывания желчных кислот с их концентрацией в кишечнике, каловые массы приобретают водянистый, пенистый вид. В этой связи потери натрия с калом более значительны при диареях, обусловленных поражением дистальных отделов тонкой кишки, чем при еюнитах. С целью дифференциации диареи при энтеральной недостаточности и поражением толстого кишечника можно пользоваться дифференциально-диагностическими признаками, приведенными в таблице.

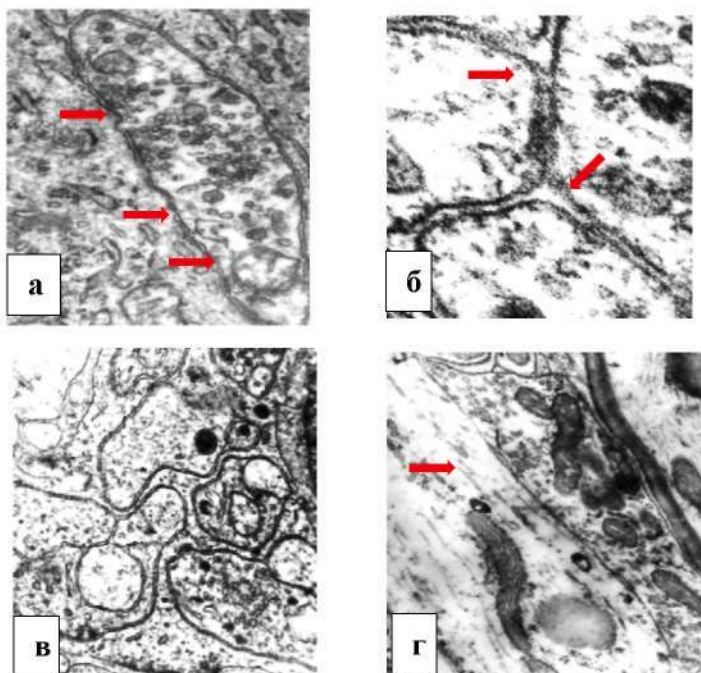
Таблица – Признаки диареи в зависимости от поражения отделов тонкого и толстого кишечника

Признак	Энтеральная диарея	Колитная диарея
Частота диареи	Не чаще 5-7 раз в день	Диарея очень частая
Объем диарейного фекалия (фекалий)	Фекал обильный	Фекал скудный
Кровь в диарейном фекале	Не обнаруживается	Встречается
Видимые остатки непереваренного корма	Обнаруживаются часто	Не встречаются
Тенизмы (частые позывы на дефекацию)	Отсутствуют	Встречаются

В норме объем процессов абсорбции воды и электролитов в кишечнике превышает объем секреции. Нарушение нормальных взаимоотношений процессов всасывания и секреции, снижение абсорбции и повышение секреции являются одними из основных механизмов диареи. Усиление секреции жидкости в кишечнике может быть следствием воздействия стимуляторов секреторных процессов, благодаря чему происходит активная секреция жидкости через неповрежденные мембраны слизистой оболочки кишечника. Кишечная секреция может возрасти и вследствие повреждения клеточных мембран в области кишечных ворсинок, тогда двигателем секреторного процесса становится гидростатический градиент, т. е. разница между давлением интерстициальной жидкости в слизистой оболочке и давлением в полости кишечника – это так называемая фильтрационная секреция (рис. 1).

Важным моментом последнего времени явилось открытие интимных молекулярных механизмов регуляции секреторных процессов в кишечнике, имеющих прямое отношение к патогенезу диареи. Важнейшим стимулятором секреции воды и электролитов в энтероцитах тонкого и толстого кишечника являются циклические аденозинмоно-

фосфаты. Аденилатциклаза содержит каталитическую и регуляторную субъединицы.



а – фрагментация и деформация мембран (стрелки) клеток на 2 день диарейного процесса; б – размытость и разрыхление контуров (стрелки) мембран на 3-4 день диарейного процесса; в – структура мембран в интактных условиях; г – просветление матрикса интерстициального пространства (стрелка) на 3-4 день диарейного процесса

Рисунок 1 – Ультраструктурные изменения в слизистой оболочке тонкого кишечника телят при дегидратации.

Электроннограмма. Ув.: а, в, г – 15000, б – 20000

Каталитическая субъединица осуществляет фосфоротрансформацию, т. е. стимуляцию синтеза цАМФ из АТФ. Воздействие на регуляторную субъединицу выводит фермент из неактивного состояния. цАМФ играет роль триггерного сигнала и является как бы посредником в процессах активации кишечной секреции, но накопление этого вещества еще не вызывает секреторного ответа. цАМФ активирует специфические ферменты протеинкиназы. Фосфорилирование белков щеточной каймы энтероцитов под действием протеинкиназ способствует избира-

тельному повышению проницаемости мембран для воды, ионов хлора и натрия в направлении просвета кишечника, т. е. их секреции, при одновременном торможении абсорбции ионов натрия (рис. 2).

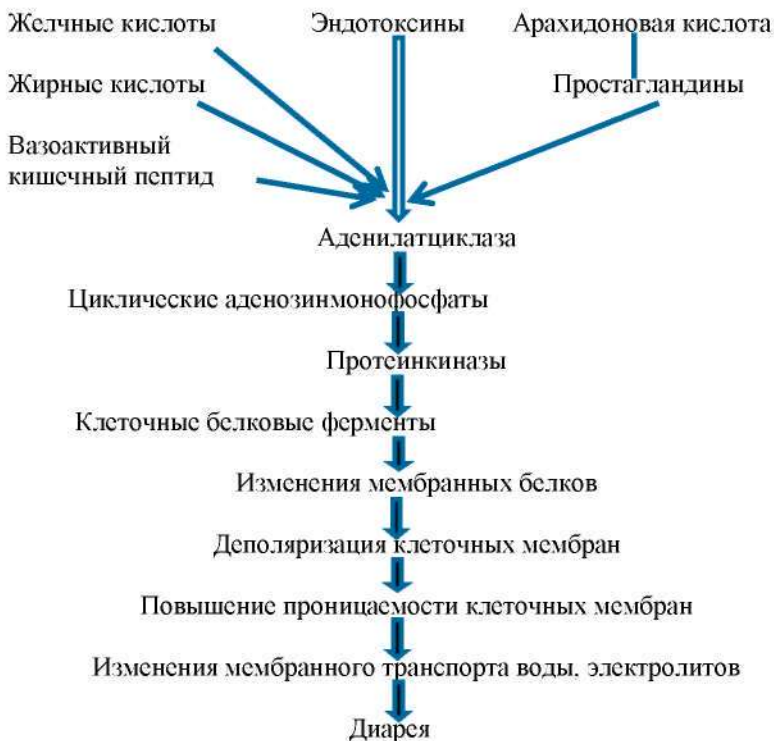


Рисунок 2 – Циклазная система в патогенезе диарей (по: А. В. Фролькис, 1989)

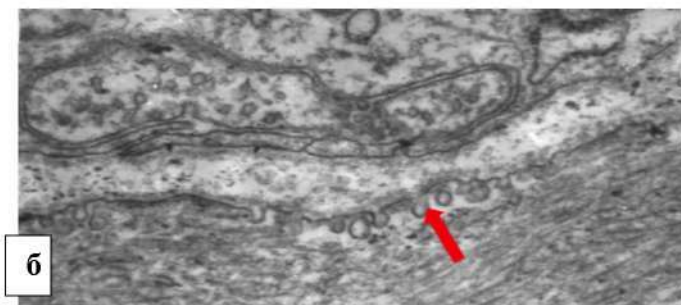
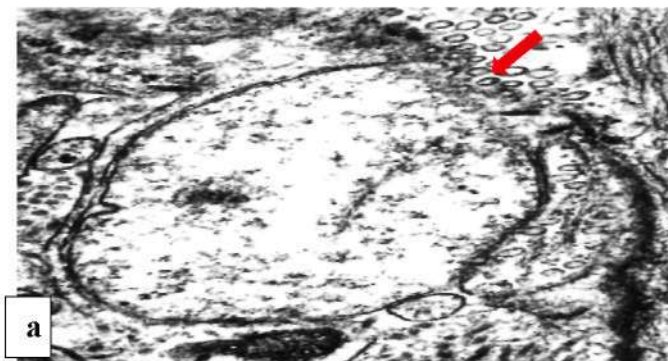
Проведенный электронно-микроскопический анализ микроциркуляторного русла тонкой кишки у поросят, не подверженных патологиям, показал, что капилляры имеют крупные широкие просветы, толстостенный эндотелий (7.5-9.7 мкм), содержащий довольно крупные митохондрии (0.8-3.5 мкм), фенестрации и вакуоли. Капилляры окутаны базальным слоем с его клеточным компонентом – перицитами и их многочисленными отростками. Высота эндотелия достигает, примерно, 0.6-1.9 мкм. Базальный слой в области неклеточного компонента был толщиной 22-65 нм. Встречаются капилляры с закрытым просветом (резервные сосуды). В ядрах эндотелиоцитов таких капилляров преобладает функционально активный эухроматин, а гетерохроматин

локализуется около ядерной оболочки. Базальная мембрана капилляров волнообразного вида, толщиной 25-55 нм. Возможно, это свидетельствует о развитии резервных микрососудов, часть из которых раскрывается, вступая в сообщение с кровотоком.

При воспалительном процессе наблюдается активизация транспортных процессов в эндотелии кровеносных сосудов, который сопровождается: 1) расширением эндоплазматической сети; 2) увеличением перинуклеарного пространства эндотелиоцитов; 3) увеличением количества пиноцитозных везикул, большинство из которых было открыто в сторону люминальной и базальной поверхностей; 4) появлением извилистости и инвагинаций в кариолемме и цитолемме. Повышение проницаемости сосудов происходит, по-видимому, за счет увеличения скорости эндотелиального транспорта и нарастания перичеллюлярной активности (рис. 3).

В звеньях капиллярного русла тонкого кишечника пороят при воспалительном процессе обращает на себя внимание появление признаков, характерных для гипоксии: микропиноцитозные пузырьки в эндотелиоцитах находились преимущественно около базальной мембраны, наблюдалась мультивезикуляция, нечеткость контуров мембран митохондрий, хаотичность в расположении крист, расширение цистерн комплекса Гольджи. Цитоплазма эндотелиоцитов одного и того же капилляра приобретала неодинаковую электронную плотность, увеличивалась перикапиллярная щель. Микропиноцитозные пузырьки нередко были соединены в сложные сферические фигуры.

При анализе состояния сосудистого русла в венах и капиллярах обнаружено внутрисосудистое свертывание крови с выпадением фибрина в виде пересекающихся нитей, тяжей (предтромбы) или формированием чисто фибриновых, глобулярных тромбов, выстилание фибрином стенок части венул и артериол. На фоне нарушения структурных компонентов сосудов происходит новообразование сосудов. Под электронным микроскопом зачаток капилляра типа «почки» представляет собой довольно сложное образование, состоящее из двух морфологически однородных частей. Основная часть находится на стенке типичного капилляра с довольно правильным овальным или округлым просветом диаметром от 5 мкм до 10 мкм; другая представлена клеточным тяжем, внутри которого определяется несколько связанных между собой камер шириной от 0,8 мкм до 2,5 мкм. В цитоплазме эндотелиоцитов таких зачатков содержится большое количество рибосом, митохондрий, канальцев эндоплазматической сети. Увеличение числа органелл является характерным признаком для малодифференцированных эндотелиальных клеток.



а – выход везикул в межклеточное пространство (стрелка); б – активный секреторный процесс (стрелка) на границе интерстициального пространства; в – разрастание соединительной ткани в межклеточном пространстве (стрелка)

Рисунок 3 – Обменные процессы в интерстициальном пространстве слизистой оболочки тонкой кишки порослят при диарее.
Электронграмма. Ув.: а, б – 20000; в – 15000

Нарушается равномерность распределения капилляров, появляются малососудистые зоны, увеличивается число петлевидных конструкций обменных сосудов, расстояние между капиллярами увеличивается до 85-105 мкм, при физиологической норме – 45-65 мкм. В результате изменения микроциркуляции возникает дискорреляция кровоснабжения, метаболизма функции тонкого кишечника. Развивающаяся ишемия приводит к поражению слизистой оболочки, т. к. известно, что при ишемии происходит угнетение кровотока в пределах 30-45%. В то же время ишемия оказывает тормозящее влияние на регенераторные и гиперпластические процессы.

Нами установлено, что численная плотность плазмалеммальных везикул в эндотелии капилляров при патологии колеблется от 15 до 185 на 1 мкм², в интактных условиях – от 10 до 120 на 1 мкм². Содержание везикул на базальной мембране выше. При слиянии двух микровезикул, связанных с люминальной и базальной плазмалеммами, формируются трансэндотелиальные каналы, которых на 15-22% больше при энтеральной недостаточности.

Мы обратили внимание на формирование фенестр в эндотелиоцитах. Фенестры отличали от везикул по следующим параметрам: диаметр фенестр несколько больше (от 45 нм до 110 нм); везикулы чаще распределены более случайно и нерегулярно, фенестры образуют кластеры; цитоплазма эндотелиоцитов по мере приближения к кластеру фенестр истончается, в то время как везикулы локализуются на всей поверхности эндотелиоцитов независимо от размеров цитоплазмы. Процесс формирования фенестр в условиях энтеральной недостаточности, очевидно, носит компенсаторный характер, т. к. фенестрированный эндотелий обладает очень значительными возможностями в осуществлении трансэндотелиального переноса.

Заключение. Повышенная бактериальная заселенность тонкой кишки и диарея наблюдаются в тех случаях, когда имеет место сочетание трех патогенных факторов: иммунодефицита, ахролгидрии и моторных нарушений кишечника. Синдром недостаточности кишечного пищеварения встречается при различных патологических состояниях: 1) недостаточная выработка пищеварительных ферментов в тонком кишечнике или в поджелудочной железе; 2) нарушение условий, необходимых для нормального функционирования энзимов на кишечных мембранах, в полости тонкой кишки. В результате усиленной выделительной функции кишечника происходит повышенная потеря белка, развиваются нарушения интестинального кровотока в микроциркуляторном русле.

В тонком кишечнике имеется три защитных барьера: 1) анатомический, состоящий из обширного эпителиального ковра, богатого ворсинками, иммунокомпетентными клетками; 2) секреторный, богатый мукопротеинами; 3) иммунологический, состоящий из различных классов иммуноглобулинов, синтезируемых слизистой оболочкой кишечника.

Макромолекулы поступают из просвета кишки в кровь и лимфу через вершины ворсинок, где происходит десквамация энтероцитов и нарушается непрерывность эпителиального пласта. Повышенная персорбция макромолекул свидетельствует о нарушениях целостности эпителиального слоя, т. е. морфологического барьера, что позволяет микробам проникать внутрь организма животного.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ № Б15МС - 020.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красочко, П. А. Биохимические и иммунологические показатели у телят, больных вирусно-бактериальными энтеритами, при лечении комплексным антидиарейным препаратом / П. А. Красочко, Е. С. Журавлева, А. А. Машинич // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2005. – №1. С. 7-9.
2. Фролькис, А. В. Энтеральная недостаточность / А. В. Фролькис. – Л.: Наука, 1989. – 207 с.
3. Cerf, M. Phenomenes immunitairey and pathologie intestine / M. Cerf, M. Hansen // Rev. Practic. – 2002. – Vol. 22. – P. 174-191.
4. Lewis, R. Modification of bile acid by intestinal bacteria / R. Lewis, S. Gorbach // Arch. Intern. Med. – 2012. – Vol. 130. – P. 545-549.
5. Miettinen, T. A. Micellarsolubilization of intestinal lipids and sterols in gluten enteropathy and liver cirrhosis / T. A. Miettinen, M. Siurala // Scand. J. Gastroenterol. – 2001. – Vol. 6. – P. 527-535.
6. Tripp, J.H. Adenylat cyclase and ($\text{Na}^+ \text{K}^+$) – ATPase activities in jejunal biopsies of children with coeliac disease and the postenteritis syndrome / J.H. Tripp, J.A. Manning, D.P. Muller // Gut. – 2006. – Vol. 17. – P. 812.
7. Vouristo, M. The role of fat and bile acid malabsorption in diarrhea of coeliac disease / M. Vouristo, T. A. Miettinen // Scand. J. Gastroenterol. – 1987. – Vol. 22. – P. 289-294.
8. Фролькис, А. В. Фармакологическая регуляция функций кишечника / А. В. Фролькис. – Л.: Наука, 1981. – 204 с.
9. Read, N. W. Speculations on the role of motility in the pathogenesis and treatment of diarrhea / N. W. Read // Scand. J. Gastroenterol. – 1983. – Vol. 18. Suppl. 84. – P. 45-63.
10. Дорофеев, Г. И. Особенности кровообращения в желудке и роль сосудистого фактора в патогенезе язвенной болезни / Г. И. Дорофеев, В. М. Успенский, Е. И. Ткаченко // Клин. медицина. – 1972. – № 10. – С. 18-21.
11. Малашко, В. В. Нарушения микроциркуляции при коллизентерите у молодняка сельскохозяйственных животных / В. В. Малашко, А. М. Казыро, Н. К. Гойлик // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр.: / Гродн. гос. аграр. Ун-т. В.К. Пестис (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2014. – Т. 25. – С. 184-192.
12. Barclay, A. The vascularization of the human stomach / A. Barclay, F.E. Bentley // Gastroenterology. – 2009. – Vol. 12. – P. 177-183.
13. Струков, А. И. Сравнительная патология микроциркуляторного русла / А. И. Струков, А. А. Воробьева // Кардиология. – 1976. – № 11. – С. 8-17.