

*Originalni rad/
Original article*

MORFOMETRIJSKE ODLIKE SLUZNICE
DUODENUMA SA OSVRTOM NA UTICAJ
PRISUSTVA BRUNEROVIH ŽLEZDA U
SLUZNICI

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF
DUODENAL MUCOSA WITH A FOCUS ON
IMPACT OF BRUNNER'S GLANDS ON
MUCOSAL CHARACTERISTICS

Bojana Andrejić Višnjić¹, Matilda Đolai^{1,2},
Sandra Trivunić Dajko^{2,3}, Aleksandra Lovrenski^{3,4},
Svetlana Balj Barbir⁵

Correspondence to:

Doc.dr **Bojana Andrejić Višnjić**
Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski
fakultet, Katedra za histologiju i
embriologiju
Hajduk Veljkova 3,
21000 Novi Sad, Srbija
e-mail:
bojana.andrejic-visnjic@mf.uns.ac.rs
tel: +381 63 166-93-00

¹ Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski Fakultet, Katedra za histologiju i embriologiju.

² Centar za patologiju i histologiju, Klinički centar Vojvodine, Novi Sad, Srbija.

³ Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za patologiju.

⁴ Služba za patoanatomsku i molekularnu dijagnostiku, Institut za plućne bolesti Vojvodine, Sremska Kamenica, Srbija.

⁵ Institut za zaštitu zdravlja dece i omladine Vojvodine, Novi Sad, Srbija.

Ključne reči

duodenum, sluznica, Brunerove žlezde, morfolologija, morfometrija

Key words

duodenum, mucosa, Brunner's glands, morphology, morphometry

Sažetak

Morfologija i morfometrija patološki izmenjenog tankog creva često je predmet istraživanja, dok postoji primetni nedostatak informacija o kvantitativnim karakteristikama zdrave sluznice humanog tankog creva, samim tim i duodenuma. Stoga je cilj našeg ispitivanja bilo utvrđivanje osnovnih morfoloških i morfometrijskih karakteristika sluznice duodenuma, i ispitivanje postojanja uticaja Brunerovih žlezda na strukturu sluznice.

U studiju je uključeno 60 bioptičkih uzoraka duodenuma očuvane sluznice, sa minimum 5 uzastopnih i pravilno orijentisanih crevnih resica. Formirane su dve grupe: A - preparati koji ne sadrže Brunerove žlezde u sluznici; B - preparati koji u sluznici sadrže Brunerove žlezde. Korišćenjem kompjuterskog stereološkog programa vršena su merenja debljine sluznice, visine resica, dubine kripti i izračunat je vilokriptalni odnos. U grupi B vršeno je i merenje prečnika lobusa Brunerovih žlezda i brojanje acinusa po vidnom polju.

Rezultati: Kod 50% preparata registrovano je prisustvo Brunerovih žlezda u sluznici duodenuma. Uočeno je postojanje razlika u vrednosti svih analiziranih parametara, ali je statistički značajna jedino manja dubna kripti u uzorcima sa prisutnim žlezdama u sluznici. Brunerove žlezde su prosečno zauzimala 28,38% debljine sluznice, sa prosečno 16,01 acinusa po vidnom polju. Brunerovih žlezda su dominantno imale građu tipa razgranatih tubularnih i tubuloalveolarnih žlezda. Konstatovana je i značajna varijacija u obliku resica duodenuma.

Naše istraživanje pokazuje da prisustvo Brunerovih žlezda u dubljim delovima sluznice ne bi bilo pravilno smatrati atipičnom pojavom i/ili patološkim nalazom, te da njihovo prisustvo u sluznici ne remeti morfološka i morfometrijska svojstva sluznice, s obzirom da nije utvrđena statistički značajna razlika u karakteristikama sluznice sa i bez Brunerovih žlezda.

UVOD

Tanko crevo sa duodenumom, kao svojim početnim delom, predstavlja najduži segment alimentarnog trakta. Uloga duodenuma u varenju ogleda se u prihvatanju enzima i alkalnog sadržaja poreklom iz pankreasa i jetre, prilagođavanju pH vrednosti sadržaja koji dolazi iz želuca kao i u apsorpciji hranljivih materija, a histološka građa duodenuma prilagođena je ovim funkcijama (1,2). Zid duodenuma ima četvoroslojnu šemu građe digestivne cevi, a iako sluznica na površini formira crevne resice, kao i sluznica ostalih segmenata tankog creva, mnogi autori navode postojanje različitih oblika resica u tankom crevu uopšte, pa i u duodenumu gde su te varijacije češće (3,4,5,6). Takođe, postoje oprečni stavovi različitih autora u pogledu uticaja starenja i pola na visinu crevnih resica u različitim segmentima tankog creva (4,7). Podsluznica duodenuma se od ostalih segmenata tankog creva razlikuje prisustvom duodenalnih, Brunerovih žlezda (*gll. duodenales Brunneri*) (1,2,3). Prvi put ih je precizno anatomski opisao 1688. godine švajcarski lekar i anatom Johann Conrad Brunner koji je smatrao da su strukturno i funkcionalno povezane sa pankreasom pa ih je označio kao „*pancreas secundarium*“. Nemački doktor Albrecht Theodor Middeldorpf je 1846. godine, utvrdio da su duodenalne žlezde zasebni entitet i predložio je da se nazovu Brunerovim žlezdama (BŽ) (8,9,10). Danas je poznato da su duodenalne žlezde karakteristika građe duodenuma svih vrsta sisara, a u čoveka, osnovna uloga im je lučenje sluzi koja sadrži bikarbonatne jone, neutralne i alkalne glikoproteine, čime neutrališe kiseo želudačni sadržaj, obezbeđujući zaštitu sluznice duodenuma i optimalni pH sadržaja za delovanje pankreasnih enzima (1,3). Osim alkalizacije želudačnog sadržaja, Brunerove žlezde stvaraju faktore rasta koji doprinose regeneraciji sluznice (1,10).

Hasan i saradnici⁽⁶⁾, smatraju kontroverznim termin „normalna duodenalna morfologija“. Ovome može ići u prilog nalaz Lawson-a koji definiše čak tri tipa duodenalne sluznice, u zavisnosti od udaljenosti od gastroduodenalnog spoja i činjenica da prisustvo žlezda uobičajenih karakteristika može menjati arhitektoniku i vilozni izgled sluznice (11). Varijacije u histološkoj slici sluznice mogu dovesti do pogrešne interpretacije stanja sluznice duodenuma, pa čak i do grešaka u histopatološkoj interpretaciji uzoraka iz ove regije (12). Osim toga, sluznica tankog creva često je zahvaćena autoimunim procesima, inflamacijom i poremećajima apsorpcije (7), te je morfologija patološki izmenjene sluznice mnogo češće bila predmet ispitivanja. Za razliku od patološki izmenjene, postoji primetni nedostatak informacija o kvantitativnim karakteristikama zdrave sluznice humanog tankog creva (11,7). Uzrok malog broja podataka o ovoj regiji je posledica je teške dostupnosti materijala iz ove oblasti (7), što bi moglo da se promeni sa tehničkim napretkom ostvarenim kod novijih endoskopskih aparata. Objektivna merenja crevnih resica i kriпти kao i drugih karakteristika sluznice duodenuma imaju značaja u istraživanjima kao i u kliničkoj praksi (5,11,12,13).

U našem ispitivanju, cilj je bio analiza uzoraka sluznice duodenuma koja nije zahvaćena patološkim procesima bilo koje vrste te na ovaj način doći do relevantnih podataka o kvantitativnim karakteristikama sluznice duodenuma.

MATERIJAL I METODE

Histološki materijal

Retrospektivno je analizirano 146 histoloških preparata tkiva, dobijenih biopsijom duodenuma (po navodu iz uputnice), koji su u periodu od 01.01.2010. do 31.12.2010. dostavljeni na rutinsku patohistološku dijagnostiku u Centar za Patologiju i Histologiju Kliničkog centra Vojvodine (KCV). Uzorci tkiva uzeti su iz drugog i trećeg segmenta duodenuma (D2, D3) (14) u skladu sa etičkim standardima Helsinške deklaracije, a upotrebu materijala u svrhu istraživanja odobrio je etički komitet KCV. U toku izrade ovog rada nisu korišćeni lični podaci pacijenata u cilju zaštite privatnosti podataka. Preparati su obojeni standardnim hematoksilin-eozin (HE) bojenjem.

Od 146 analiziranih uzoraka, u studiju je uključeno 60 uzoraka.

Kriterijumi za uključanje histološkog materijala u analizu

- Rutinski bioptički uzorci sluznice duodenuma koji su imali očuvanu sluznicu (jasno definisane crevne resice i očuvanu laminu muskularis sluznice, kao granicu sluznice prema podsluznici) i prisutne Brunerove žlezde u sluznici ili podsluznici;
- Rutinski bioptički uzorci kod kojih je uočeno prisustvo minimum 5 uzastopnih, očuvanih i pravilno orijentisanih crevnih resica (5,6,7).

Kriterijumi za isključenje histološkog materijala iz analize

- Rutinski bioptički uzorci kod kojih je ustanovljeno prisustvo patoloških promena. Isključenje patoloških promena u analiziranom materijalu vršili su specijalisti patologije zaposleni u Centru za patologiju Kliničkog centra Vojvodine.
- Rutinski bioptički uzorci uzeti od pacijenata kod kojih je verifikovano neko do stanja/oboljenja koja bi mogla uticati na karakteristike sluznice proksimalnih segmenata tankog creva (reumatoidni artritis, ranije operacije želuca, srčana insuficijencija, inflamatorna bolest creva, oboljenja pankreasa, imunodeficijencija i dr.) (14).

Od analiziranih preparata formirane su dve grupe:

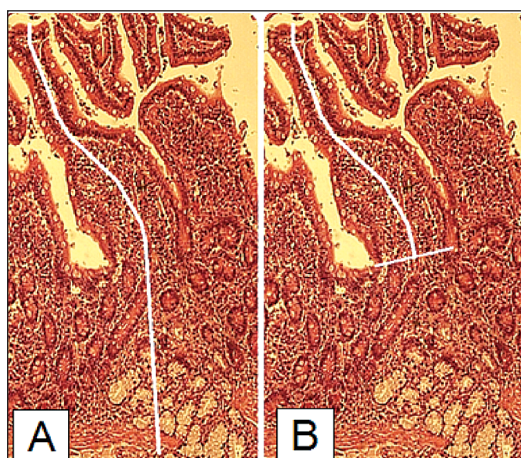
- grupa A - preparati tankog creva, po uputnici iz regije duodenuma, koji u sluznici ne sadrže Brunerove žlezde;
- grupa B - preparati koji u sluznici duodenuma sadrže Brunerove žlezde.

Morfometrijska analiza

Po dva isečka svakog preparata (7,14) analizirana su na svetlosnom mikroskopu pod različitim uveličanjima (50x, 100x, 200x, 400x, 630x). Svaki od preparata fotografisan je kamerom Leica DC100 na uvećanju 100x. Na dobijenim slikama, na izabranim vidnim poljima (3 vidna polja po isečku, uveličanja 20x), korišćenjem kompjuterskog stereološkog programa *Olympus Cell A* vršena su odgovarajuća merenja manuelnim odabirom tkivnih elemenata koji su analizirani (7,15).

U obe grupe preparata merene su:

- debljina sluznice (DS)- rastojanje od vrha resice do granice *laminae muscularis mucosae* i podsluznice; (7) - 10 merenja po isečku (Slika 1A);
- visina resica (VR) - rastojanje od vrha do baze resica (rastojanje od sredine vrha resice, duž osovine resice, do baze resice na zamišljenoj liniji koja spaja granice sa dve susedne resice). U ispitivanje su uključene samo



Slika 1. Primer merenja nekih od analiziranih parametara (A- debljina mukoze, B- visina resice); HE, 10x.

resice koje su imale vidljivu stromu koja je u kontinuitetu sa interkriptalnom stromom (15). Po isečku je mereno 5-10 resica (5,6,7) (Slika 1B).

- dubina kripti (DK) – uključene su samo one kriptičiji su uzdužni preseći prisutni na preparatu od *laminae muscularis mucosae* do površine sluznice creva, tj početka resica (15). Po isečku je mereno 6 kripti (7).
- vilokriptalni odnos - izračunavan je iz rezultata visine resica i dubine kripti za svaki preparat (7).

U grupi B pored navedenih merenja, vršeno je i:

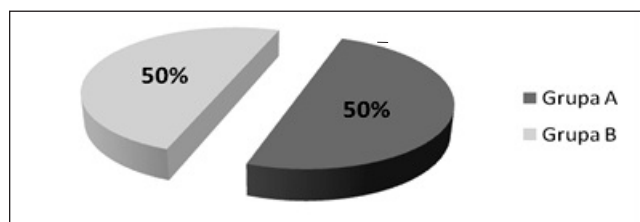
- merenje debljine Brunerovih žlezda - prečnik lobulusa Brunerovih žlezda u pravcu od *laminae muscularis mucosae* ka bazi resica;
- izračunavanje procenta debljine sluznice koji zauzimaju Brunerove žlezde (na osnovu podataka o debljini sluznice i prečniku lobulusa žlezda),
- brojanje acinusa Brunerovih žlezda u sluznici po vidnom polju. Brojanje je vršeno na slikama snimljenim na uveličanju od 20x (12).

Statistička analiza podataka

Podaci su analizirani programom MS Office - Excel, a izračunate su srednje vrednosti (\bar{x}), standardna devijacija (SD) dok je statistička značajnost dobijenih podataka određivana t-test-om.

REZULTATI

Nakon grupisanja preparata u grupe A i B, verifikovano je da je od ukupno analiziranih 60 preparata, kod 30 registrovano prisustvo Brunerovih žlezda u sluznici duodenuma (Grafikon 1).



Grafikon 1. Procenat preparata sa Brunerovim žlezdama u mukozi

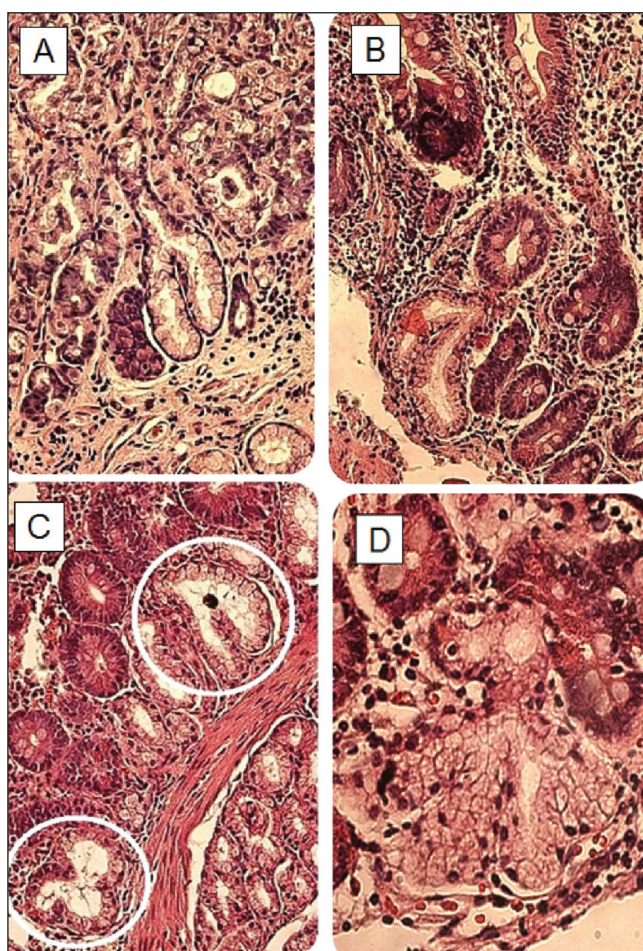
U analiziranim grupama, uočeno je postojanje razlika vrednosti debljine sluznice, u korist grupe A, ali ta razlika nije statistički značajna (Tabela 1).

Tabela 1. Morfometrijski parametri i vilokriptalni odnos u ispitivanim grupama (Grupa A- bez žlezdi, i Grupa B - sa žlezdama u mukozi).

Parametar	Grupa A $\bar{x} \pm 2SD$	Grupa B $\bar{x} \pm 2SD$
Visina sluznice (μm)	840,82 \pm 419,30	838,88 \pm 251,18
Visina crevnih resica (μm)	521,10 \pm 153,06	473,76 \pm 126,08
Dubina kripti (μm)	201,30 \pm 111,2	142,48 \pm 182,11*
Vilokriptalni odnos	2,60 \pm 0,5	3,30 \pm 0,19

Legenda: * - $p < 0,05$

Poređenjem visine crevnih resica u analiziranim grupama preparata, utvrđena je razlika u visini resica (Tabela 1), u uzorcima sluznice bez prisutnih BŽ, ali statistička značajnost te razlike nije potvrđena t-test-om, kao ni razlika u vilokriptalnom odnosu. Statistički je značajno manja vred-



Slika 2. Tipovi građe Brunerovih žlezda u analiziranom materijalu (A, B –razgranata tubularna žlezda, C- razgranata tubularna (gore, desno) i razgranata alveolarna (dole, levo), D- razgranata tubuloalveolarna); HE, 20x.

nost dubine kriпти u uzorcima gde su Brunerove žlezde prisutne u sluznici ($p < 0,05$).

U okviru grupe B, na osnovu izmerenih vrednosti prečnika lobusa Brunerovih žlezda u sluznici i vrednosti debljine sluznice, ustanovljeno je da žlezde u proseku zauzimaju 28% debljine sluznice (Tabela 2).

Tabela 2. Prosečna vrednost prečnika lobusa Brunerovih žlezda (BŽ) u mukozi i procenat visine mukoze koji zauzimaju žlezde.

	Prečnik lobusa BŽ u mukozi (μm)	Procenat debljine mukoze (%)	Broj acinusa po vidnom polju
$\bar{x} \pm 2SD$	225,67 \pm 131,50	28,38 \pm 20,26	16,01 \pm 22,02

Analizom građe Brunerovih žlezda u posmatranom materijalu, ustanovili smo da su građene pretežno po tipu razgranatih tubularnih i tubuloalveolarnih žlezda, i ređe razgranatih alveolarnih (Slika 2).

DISKUSIJA

Postoje gledišta da bioptički uzorci nisu odgovarajuće veličine i kvaliteta za morfometričke studije arhitekture resica i kriпти tankog creva. Ipak izvršena su mnoga istraživanja baš na ovom tipu uzoraka uz adekvatan odabir preparata (5,6,7,12). Uslov za uključivanje uzorka u studiju predstavlja postojanje čitave debljine sluznice i prisustvo 5-10 uzastopnih, očuvanih i pravilno orijentisanih resica (5,6,7). Kako ova istraživanja i metode odabira preparata nisu osporene, šta više - prihvaćene su, pridržavali smo se ovih smernica u našoj studiji. Iako količinski mali, bioptički dobijeni materijal je daleko prikladniji za analizu od obdukcijskog, jer ova regija brzo podleže autolitičkim promenama (11).

Prisustvo Brunerovih žlezdi u podsluznici je neosporno (1,2,3,12). Međutim, kada je u pitanju nalaz žlezda u sluznici, postoje razmimoilaženja. Jedna grupa autora navodi da su Brunerove žlezde, u normalnom, zdravom duodenumu, prisutne samo u podsluznici (3,8,9,11,12), dok drugi smatraju da se žlezde u normalnom, zdravom duodenumu, mogu naći i u dubljim delovima sluznice (2,10,16). Našim istraživanjem pokazano je da u polovini ispitanih preparata postoje Brunerove žlezde u sluznici, te da prisustvo Brunerovih žlezda u sluznici ne bi bilo pravilno smatrati atipičnom pojavom i/ili znakom poremećaja.

Macea *et al* proučavali su broj žlezdanih (sekretornih) jedinica Brunerovih žlezda u podsluznici po vidnom polju i dobili različite vrednosti u svakom od segmenata duodenuma (D1-4); D2 - 76,7 žlezdanih jedinica po vidnom polju, D3 - 19,8 žlezdanih jedinica po vidnom polju (12). Kako su uzorci koje smo mi analizirali uzeti iz segmenata D2 i D3, interesantan je podatak da je naša vrednost acinusa po vidnom polju u sluznici (16,01) približna vrednosti broja aci-

nusa po vidnom polju koju su detektovali Macea *et al* u podsluznici D3 segmenta (12). Takođe, prosečan broj acinusa po vidnom polju koji smo izbrojali može poslužiti kao smernica, u smislu broja acinusa u sluznici bioptičkog uzorka kod koga ne treba očekivati značajnije promene u strukturi same sluznice. Ni u uzorku u kome je verifikovan maksimalan broj acinusa po vidnom polju (38,03) nije došlo do statistički značajnog povećanja debljine sluznice u odnosu na grupu A.

Poređenjem debljina sluznice u grupama A i B, utvrđena je razlika u korist grupe A (bez žlezda u sluznici), ali je ona suviše mala da bi bila statistički značajna. Hassan *et al* utvrdili su prosečnu visinu resica duodenuma od 650 μm , sa čime su naše vrednosti u skladu (6). Ipak postoje autori koji navode visinu od 1,5mm i čak do 3mm u gastroduodenalnoj regiji (1,2,11). Našim merenjima pokazano je da prisustvo Brunerovih žlezda u sluznici ne dovodi do značajnih razlika u visini resica, ali su zato vrednosti dubine kriпти, značajno niže u grupi gde žlezde zalaze u sluznicu. Ipak, ukupno gledajući, ove razlike ne utiču značajno na promenu morfologije sluznice, jer vilokriptalni odnos, u obe grupe ne odstupa značajno od normalne vrednosti (normalno se smatra oko 3:1 do 5:1). Ovaj nalaz nije u saglasnosti sa tvrdnjom pojedinih autora da su resice iznad žlezda kraće i da njihovo prisustvo remeti morfologiju sluznice (5).

Podatak da Brunerove žlezde prosečno zauzimaju približno jednu četvrtinu (28,38%) debljine sluznice, tj bazalnu četvrtinu sluznice, slaže se sa deskriptivnom tvrdnjom pojedinih autora (2,10,15) koji navode da se žlezde mogu naći u „dubljim delovima“ sluznice. Brunerove žlezde su maksimalno zauzimale jednu polovinu debljine sluznice (48,64%), ali čak ni ovaj procenat zastupljenosti žlezda nije rezultirao statistički značajnom promenom debljine sluznice u odnosu na grupu A.

Od različitih tipova građa Brunerovih žlezda koje navode pojedini autori u našem radu našla se potvrda za građu po tipu razgranate tubularne i tubuloalveolarne žlezde, uz retke primere razgranatih alveolarnih. Posmatranjem oblika resica na preparatima uočava se znatan broj varijacija oblika resica što je u skladu sa navodima drugih autora. Takođe, vidljiva je (ali nije adekvatno morfometrijski obrađena) i raznolikost u širini pojedinih resica.

Na osnovu sprovedenih merenja i izračunavanja, može se zaključiti da je prisustvo Brunerovih žlezda u sluznici, i to u bazalnoj četvrtini, može se smatrati normalnim histološkim nalazom, koji ne dovodi do značajnih morfoloških i morfometrijskih promena sluznice.

Abstract

Morphology and morphometry of pathologically altered tissue of the small intestine is well known, while there is significant lack of informations about quantitative characteristics of healthy human small intestine mucosa, including duodenal. The aims of this study were to verify basic morphometric features of duodenal mucosa, presence of Brunner's glands in it, and their influence on features of the mucosa.

Overall 60 bioptic specimens of duodenum were analyzed, all of them having preserved mucosa with a minimum of 5 consecutive and properly oriented villi. Two groups were formed: A - specimens which do not contain Brunner's glands in mucosa; B - specimens which contain Brunner's glands in mucosa. Using a computer program, we measured mucosal thickness, height of villi, depth of crypts and calculated villus to crypt ratio in both groups. Additionally, in group B, diameter of lobules of Brunner's glands was measured and number of acini per microscopic field was counted.

The presence of Brunner's glands in duodenal mucosa was registered in 50% of cases. Differences in the analyzed parameters were noted, but only the smaller depth of crypts in group B showed statistical significance. Brunner's glands occupied 28.38% of the mucosal thickness with average 16.01 of acini per field. Most glands showed structure of branched tubular and tubuloalveolar glands.

According to our research, the presence Brunner's glands in the deeper parts of the mucosa are not an atypical and/or pathological condition, and the presence of the glands does not alter morphological and morphometric features of the duodenal mucosa.

LITERATURA

- Gartner LP, Hiatt JL. Digestive System: Alimentary Canal. In: Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. 3rd ed. Amsterdam: Saunders; 2006. p. 381-412.
- Andelković Z, Somer LJ. Digestivni trakt. In: Andelković Z, Somer LJ, Avramović V, Milosavljević Z, Tanasković I, Matavulj M, et al. Histologija. 1st ed. Niš: Impresum; 2009. p. 195-223.
- Junqueira LC, Carniero J. Digestive tract. In: Junqueira LC, Carniero J. Basic Histology: Text & Atlas. 11th ed. New York City: McGraw-Hill Companies; 2005.
- Giacosa A. Morphometry of normal duodenal mucosa. Scand J Gastroenterol Suppl. 1989;167:10-2.
- Serra S, Jani PA. An approach to duodenal biopsies. J Clin Pathol. 2006;59:1133-50.
- Hasan M, Sircus W, Ferguson A. Duodenal mucosal architecture in non-specific and ulcer-associated duodenitis. Gut. 1981;22:637-41.
- Trbojević-Stanković JB, Miličević NM, Milošević DP, Despotović N, Davidović M, Erceg P, et al. Morphometric study of healthy jejunal and ileal mucosa in adult and aged subjects. Histol Histopathol. 2010;25:153-8.
- Gao YP, Zhu JS, Zheng WJ. Brunner's gland adenoma of duodenum: A case report and literature review. World J Gastroenterol. 2004;10(17):2616-7.
- Lee WC, Yang HW, Lee YJ, Jung SH, Choi GY, Go H, et al. Brunner's gland hyperplasia: Treatment of severe diffuse nodular hyperplasia mimicking a malignancy on pancreatic-duodenal area. J Korean Med Sci. 2008;23:540-3.
- Chattopadhyay P, Kundu A K, Bhattacharyya S, Bandyopadhyay A. Diffuse nodular hyperplasia of Brunner's gland presenting as upper gastrointestinal haemorrhage. Singapore Med J. 2008;49(1):81.
- Lawson HH. Definition of gastroduodenal junction in healthy subjects. J Clin Pathol. 1988;41:393-6.
- Macea MMI, Macea JR, Fregnani TJHG. Quantitative study of Brunner's glands in the human duodenal submucosa. Int J Morphol. 2006;24(1):7-12.
- Wilson FD, Cummings TS, Barbosa TM, Williams CJ, Gerard PD, Peebles ED. Comparison of two methods for determination of intestinal villus to crypt ratios and documentation of early age-associated ratio changes in broiler chickens. Poult Sci. 2018; 97(5):1757-1761.
- Lipski PS, Bennett MK, Kelly PJ, James OFW. Ageing and duodenal morphometry. J Clin Pathol. 1992; 45:450-452.
- Ettarh RR, Carr KE. Morphometric analysis of the small intestinal epithelium in the indomethacin-treated mouse. J Anat. 1996; 189:51-56.
- Hol JW, Stuijbergen WNHM, Teepen JLJM, van Laarhoven CJHM. Giant Brunner's hamartomas of the duodenum and obstructive jaundice: An overview of the literature and suspicion of malignancy in a case. Dig Surg. 2007;24:452-5.

■ Rad primljen: 06.12.2018. / Rad prihvaćen: 16.12.2018