

С.М.Білаш

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія»,
м. Полтава

Ключові слова: слизова оболонка шлунка, гострий експериментальний гастрит, препарат «Платекс-плацентарний», дифузна лімфоїдна тканина.

Надійшла: 16.10.2012

Прийнята: 21.11.2012

УДК: 616.33 – 002.1 – 092.9: 615.36

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДИФУЗНОЇ ЛІМФОЇДНОЇ ТКАНИНИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ФУНДАЛЬНОГО ВІДДІЛУ ШЛУНКА ПРИ ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГАСТРИТІ, ВВЕДЕННІ ПРЕПАРАТУ «ПЛАТЕКС-ПЛАЦЕНТАРНИЙ» ТА ЇХ СУМІСНІЙ ДІЇ

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи "Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів" (номер державної реєстрації 0108U001572).

Резюме. У дослідженні вивчені особливості локалізації та кількісні зміни імунотетних клітин дифузної лімфоїдної тканини слизової оболонки фундального відділу шлунка при гострому експериментальному гастриті, введенні препарату «Платекс-плацентарний» та їх сумісній дії. Встановлено, що при гострому експериментальному гастриті імунна відповідь проходить за гуморальним типом з активацією усіх клітинних елементів дифузної лімфоїдної тканини. При введенні препарату «Платекс-плацентарний» імунні реакції проходять лише у відповідь на введення препарату як гетеротрансплантату на ранніх термінах експерименту. При введенні препарату «Платекс-плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту імунні реакції в слизовій оболонці шлунка проходили толерантніше та швидше.

Морфологія. – 2012. – Т. VI, № 4. – С. 12-17.

© С.М.Білаш, 2012

Bilash S.M. Morphofunctional description of diffuse lymphoid tissue of stomach fundal department's mucosa at acute experimental gastritis, introduction of preparation «Platex-placental» and their united action.

Summary. In research the features of localization and quantitative changes of immunocompetent cells of diffuse lymphoid tissue of stomach fundal department's mucosa are studied at acute experimental gastritis, introduction of preparation «Platex-placental» and their united action. It is set, that at acute experimental gastritis an immune answer passes on a humoral type with activating of all cellular elements of diffuse lymphoid tissue. At introduction of preparation «Platex-placental» immunoreactions pass only in reply to preparation as heterograft, on the early terms of experiment. At introduction of preparation «Platex-placental» on a background of acute experimental gastritis immunoreactions in the stomach's mucosa passed more tolerant and quicker.

Key words: stomach's mucosa, acute experimental gastritis, preparation «Platex-placental», diffuse lymphoid tissue.

Вступ

В останні роки особливе значення в розробці проблем імунотоморфології має клітинний та субклітинні рівні вивчення органів імунної системи, зокрема лімфоїдної тканини. Усі функції імунної системи забезпечують її клітинні елементи від поліпотентної стовбурової клітини до ефекторних клітин (лімфоцити, плазмодити, макрофаги), які перебувають у процесах проліферації, диференціації, міграції, кооперації та апоптоза (Труфакин В.А., Робинсон М.В., 2005; Кононенков В.И., Дергачёва Т.И., 2009). Будова, топографія та цитоархітектоніка лімфоїдних структур слизової оболонки шлунка в умовах відносної норми залежить від віку тварин і час-

тини шлунка (Калинюк І.Г., 2005). Вивчення місця та ролі дифузної лімфоїдної тканини слизової оболонки шлунка, при його різних захворюваннях, є перспективним тому, що слизова оболонка шлунка є межею зовнішнього і внутрішнього середовищ і першою лінією захисту організму від проникнення різних антигенів, що потрапляють на слизову оболонку з їжею. Пошук нових методик у комплексній терапії запальних процесів шлунку є актуальним напрямком теоретичної та клінічної медицини (Грищенко В.И., Суббота Н.П., 2000).

Мета – встановити особливості цитоархітектоніки та кількісні зміни клітин дифузної лімфоїдної тканини слизової оболонки фундального

відділу шлунка при гострому експериментальному гастриті, введенні препарату «Платекс-плацентарний» та їх сумісній дії.

Матеріали та методи

Об'єктом експериментального дослідження була стінка шлунка, котра вилучена від 175 статевозрілих щурів-самців лінії «Вістар2». Експеримент був проведений згідно з «Правилами використання лабораторних експериментальних тварин» (2006, додаток 4) і Гельсінською декларацією про гуманне відношення до тварин. Тварини були розділені на сім груп: перша група – 10 інтактних тварин; друга контрольна група – 10 тварин, яким вводився внутрішньоочередово 1 мл фізіологічного розчину; третя контрольна група – 10 тварин, яким був зроблений розріз на зовнішній поверхні стегна; четверта контрольна група – 10 тварин, яким вводився внутрішньоочередово 1 мл фізіологічного розчину та був зроблений розріз на зовнішній поверхні стегна; п'ята експериментальна група – 45 тварин, яким моделювався гострий гастрит шляхом введення внутрішньоочередово 5 мг λ -карагінена («Sigma», США) в 1 мл фізіологічного розчину на одну тварину; шоста експериментальна група – 45 тварин, яким одноразово був введений препарат «Платекс-плацентарний» (сертифікат про державну реєстрацію медичного імунологічного препарату № 73408-30020000 від 09 липня 2008 року); сьома експериментальна група – 45 тварин, яким на тлі змодельованого гострого гастриту вводили підшкірно одноразово препарат «Платекс-плацентарний». Тварин виводили із експерименту шляхом передозування тіопенталового наркозу згідно встановлених термінів (1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 30 діб експерименту). Фундальна частина шлунку визначалась, як середня частина шлунку з боку великої кривизни, що безпосередньо примикала до стравохідної частини (Ноздрачев А.Д., 2001). Фрагменти стінки фундального відділу шлунку заливали в парафін та епоксидну смолу за загальноприйнятими методиками. Парафінові зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, гематоксиліном Майєра та проводили імуногістохімічні і лектинохімічні реакції. Для постановки імуногістохімічних реакцій використовували антитіла до антигенів щура фірми Abcam: rabbit poliklonal to CD3 – з метою визначення Т – лімфоцитів; mouse monoclonal [SP6] to CD68 – для визначення макрофагів. Для лектиногістохімічних реакцій використовували: лектин арахісу (PNA) – для ідентифікації Т-клітинної субпопуляції лімфоцитів; лектин сої – для ідентифікації В-лімфоцитів. Кількість та локалізація клітин дифузної лімфоїдної тканини підраховувалась за допомогою мікроскопу з цифровою мікрофотонасадкою фірми Olympus C 3040-ADU з адаптованими для даних досліджень програмами (Olympus DP – Soft, ліцензія № VJ285302, VT310403, 1AV4U13B26802)

та BIOREX 3 (серійний номер 5604) у полі зору на площі 625 мкм².

Результати та їх обговорення

Лімфоїдні утворення у фундальному відділі слизової оболонки шлунка були представлені лімфоїдними вузликами, які розташовувались у товщі слизової оболонки та підслизовій основі, і дифузною лімфоїдною тканиною, яка виявлялась у власній пластинці слизової оболонки між дном власних залоз і м'язовою пластинкою, а також між самими власними залозами.

Дифузна лімфоїдна тканина утворювала неперервні багаторядні ланцюжки з лімфоїдних клітин, які були орієнтовані паралельно до м'язової пластинки слизової оболонки фундального відділу шлунка. Також дифузна лімфоїдна тканина утворювала мікроскупчення з лімфоцитів, які розташовувались біля судин гемомікроциркуляторного русла.

У складі дифузної лімфоїдної тканини визначались малі, середні та великі лімфоцити, плазмоцити, макрофаги, мастоцити. Імуногістохімічно нами визначені Т- та В-лімфоцити. У інтактних щурів у відсотковому співвідношенні малі лімфоцити складали 40,6%, Т-лімфоцити – 21,2%, В-лімфоцити – 20,2%, плазмоцити – 6,6%, макрофаги – 2,7% і мастоцити – 8,7%.

Порівнявши показники кількості імунокомпетентних клітин, їх локалізацію і морфологічні особливості будови в групі інтактних щурів та щурів II, III і IV контрольних груп нами встановлено, що суттєва різниця відсутня. Це свідчить про те, що сама процедура введення λ -карагінена, препарату «Платекс-плацентарний», введення препарату «Платекс-плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту не викликає морфологічних змін у слизовій оболонці фундального відділу шлунка.

У п'ятій експериментальній групі змінювалась локалізація та кількість клітин дифузної лімфоїдної тканини. Малі лімфоцити розташовувались переважно у власній пластинці і з 1-ї доби експерименту збільшувались у своїй кількості та максимального значення набували на 3-тю добу (збільшились у 2,7 рази). З 5-ї доби поступово їх кількість починала зменшуватись, але до показників контрольної групи тварин не наближалась навіть до 30-ї доби експерименту. Т-лімфоцити теж кількісно збільшувались з 1-ї доби, максимум сягали на 3-тю добу спостереження (збільшувались у 2,4 рази), а з 5-ї доби поступово зменшувались у своїй кількості і сягали показників контрольної групи тварин на 30-ту добу експерименту. В-лімфоцити максимальної кількості набували на 5-7-му добу експерименту (збільшились у 3 рази). З 10-ї доби їх кількість поступово зменшувалась і показників контролю сягала до 30-ї доби експерименту. Плазмоцити максимально збільшувались у своїй кількості на 7-му добу спостереження (збільшились у 2,8 разів), а з 10-ї

добу експерименту почали зменшуватись і показники контролю набували до 30-ї доби спостереження. Макрофаги своїх максимальних значень набували на 2-3-тю добу спостереження і збільшувались у своїй кількості в 3,4 рази (рис. 1). На 5-7-му добу експерименту їх кількість трималась на високому рівні, а з 10-ї доби спостереження макрофаги кількісно зменшувались і

показників контролю набували до 30-ї доби спостереження. Мастоцити максимально кількісно збільшувались у 2,1 рази на 7-му добу експерименту, але на високому рівні тримались з 3-ї по 10-ту добу спостереження. З 14-ї доби їх кількість поступово зменшувалась і до показників контролю наближалась на 30-ту добу.

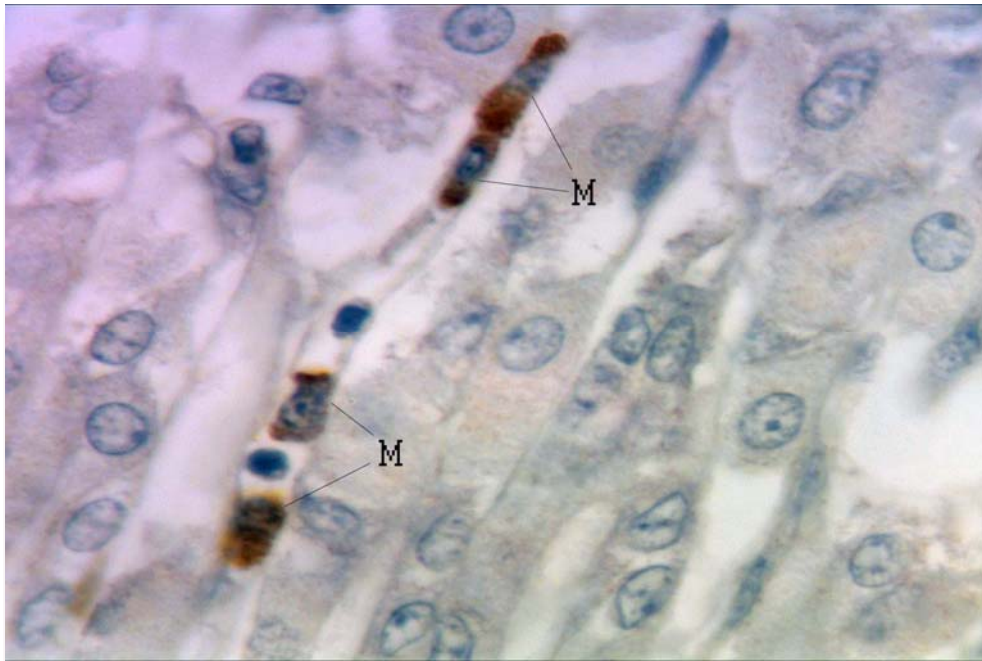


Рис. 1. Активізація макрофагів (М) у власній пластинці слизової оболонки фундального відділу шлунка на 3-тю добу гострого експериментального гастриту. Імуногістохімічна реакція з моноклональними антитілами mouse monoclonal [SP6] to CD68, дофарбування гематоксиліном Майєра. $\times 1000$.

Таким чином зміни кількості імунокомпетентних клітин дифузної лімфоїдної тканини слизової оболонки фундального відділу шлунка при гострому експериментальному гастриті свідчать про активні імунні реакції за гуморальним типом. Збільшення кількості макрофагів на ранніх етапах експерименту свідчить про активні процеси процесування антигенів. У подальшому розвитку імунної відповіді відбувалась активація Т-лімфоцитів і, як наслідок, їх кількість збільшилась на 3-тю добу спостереження. Активація В-лімфоцитів починається з 5-ї доби, а вже з 7-ї доби збільшувалась кількість плазмочитів. Передача перероблених макрофагом антигенів забезпечує проліферацію і диференціювання В-лімфоцитів у плазмочити, які вже і виробляли специфічні антитіла під конкретний антиген. Збільшення кількості мастоцитів свідчить про вивільнення ними біологічно активних речовин, які здійснюють неспецифічне стимулювання процесів проліферації та диференціювання імунокомпетентних клітин. Динаміка змін кількості клітин дифузної лімфоїдної тканини слизової оболонки фундального відділу шлунка при гост-

рому експериментальному гастриті представлені на рисунку 2.

У шостій експериментальній групі тварин, яким одноразово був введений препарат «Платекс-плацентарний» зміни у кількісному співвідношенні лімфоїдних клітин були менш агресивними порівняно з п'ятою експериментальною групою. Так кількість малих лімфоцитів максимально збільшувалась у 1,5 рази на 5-ту добу експерименту, а до показників контролю наближалась до 21 доби. Т-лімфоцити максимальних значень сягали на 5-ту добу і збільшувались всього у 1,1 рази, а показників контрольної групи тварин набували на 14-ту добу експерименту. Кількість В-лімфоцитів теж максимально збільшувались на 5-ту добу в 1,3 рази і показників контрольної групи сягали на 21-шу добу. Кількість плазмочитів, як ефektorних клітин, максимального значення набувала на 7-му добу (збільшувалась у 2 рази) і до показників контрольної групи наближалась на 21-шу добу. Кількість макрофагів поступово збільшувалась з 1-ї по 5-ту добу експерименту. Максимальна їх кількість збільшилась у 2 рази на 5-ту добу спостереження. Кількість мастоцитів максимальних значень набувала вже на 2-гу добу експерименту

(збільшувалась у 2,4 рази) і трималась на відносно високому рівні з 1-ї по 5-ту доби, але до показників контролю наблизилась вже на 10-ту добу спостереження. Така кількісна перебудова свідчить про активні імунні реакції у слизовій оболонці фундального відділу шлунка за гуморальним типом лише на ранніх строках експерименту. Це пов'язано з реакцією

організму на введення препарату «Платекс-плацентарний», як на гетеротрансплантат. Динаміка змін кількості клітин дифузної лімфної тканини слизової оболонки фундального відділу шлунка при введенні препарату «Платекс-плацентарний» представлені на рисунку 3.

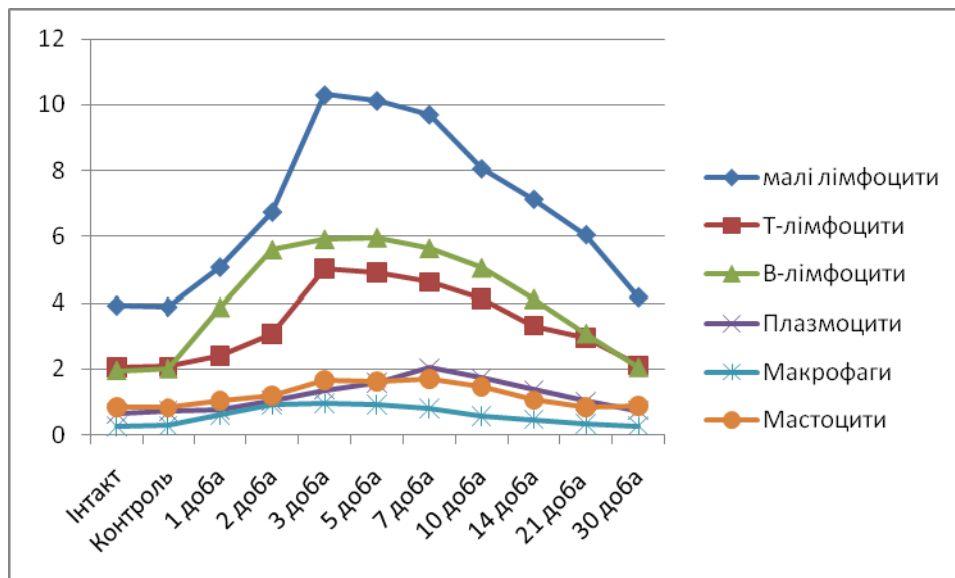


Рис. 2. Зміни кількості клітин дифузної лімфної тканини слизової оболонки фундального відділу шлунка при гострому експериментальному гастриті.

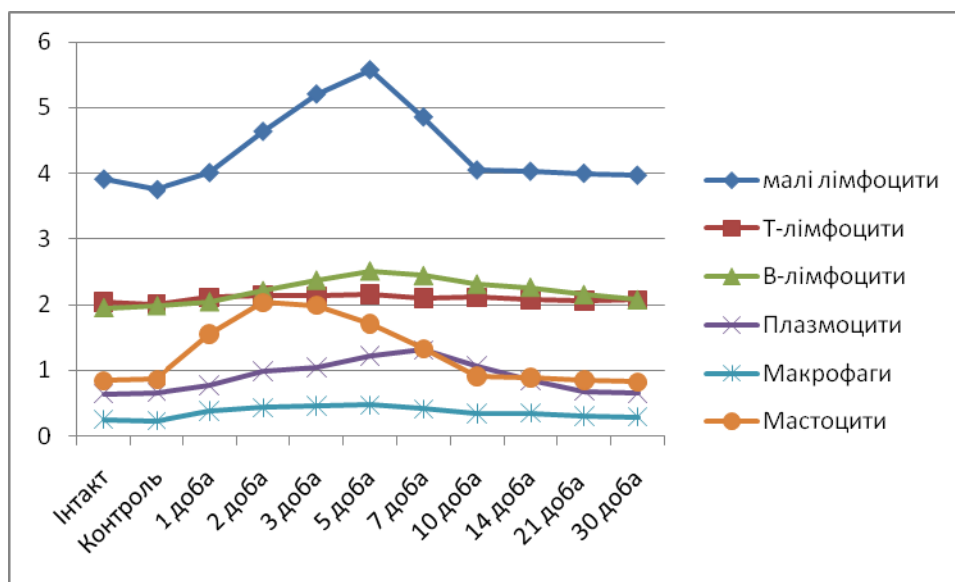


Рис. 3. Зміни кількості клітин дифузної лімфної тканини слизової оболонки фундального відділу шлунка при введенні препарату «Платекс-плацентарний».

У сьомій експериментальній групі кількісні зміни імунокомпетентних клітин дифузної лімфної тканини протікали більш м'яко і швидше, у порівнянні з п'ятою експериментальною групою, але коефіцієнт їх збільшення був суттєвішим порівняно

з шостою експериментальною групою тварин. Кількість малих лімфоцитів збільшувалась з 2-ї доби експерименту і максимального рівня набувала на 5-ту добу, збільшуючись у 2 рази. Кількість Т-лімфоцитів максимально зростала з 3-ї по 5-ту добу

спостереження (у 1,7 разів). Кількість В-лімфоцитів максимуму сягала на 5-ту добу (збільшувалась у 2,2 рази), але високі показники тримались з 3-ї по 14-ту добу експерименту. У відповідь на активацію В-лімфоцитів плазмоцити тримались на високому рівні з 3-ї по 14-ту добу, порівняно з контрольною групою тварин, і їх коефіцієнт збільшення був 2,7. Макрофаги кількісно збільшувались у 2,4 рази з 3-ї по 5-ту добу спостереження і показників контролю сягали

до 21-ї доби експерименту. Мастоцити максимального збільшення у 2,8 разів набували вже на 2-гу добу, а показників контролю досягали на 10-ту добу (рис. 4). Динаміка змін кількості клітин дифузної лімфоїдної тканини слизової оболонки фундального відділу шлунка при введенні препарату «Платекс-плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту представлені на рисунку 5.

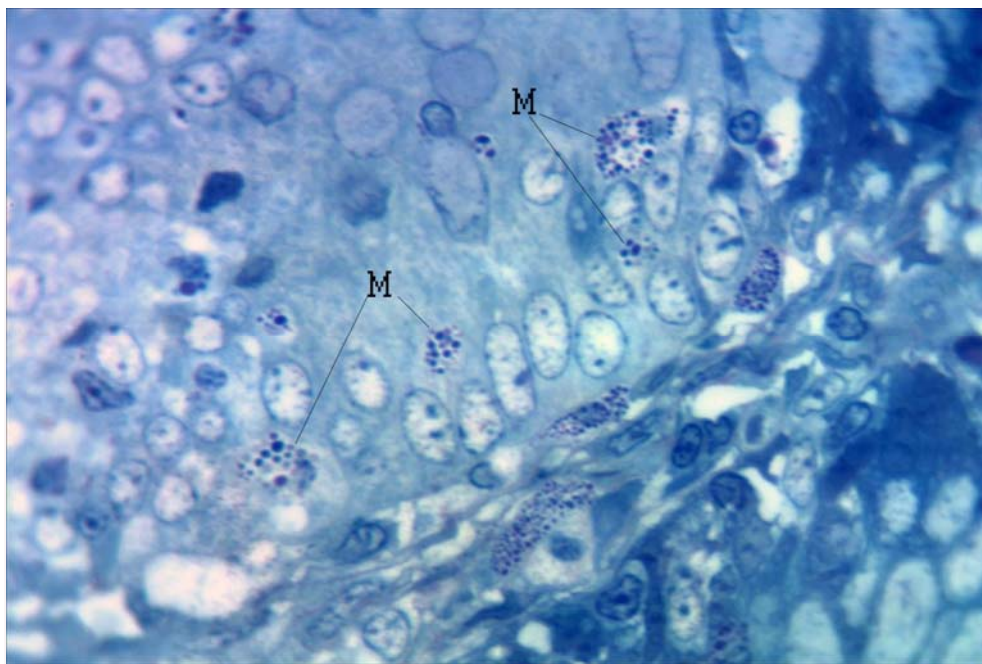


Рис. 4. Мастоцити (М) в стані дегрануляції у власній пластинці слизової оболонки фундального відділу шлунка на 2-гу добу введення препарату «Платекс-плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту. Напівтонкий зріз, забарвлення толуїдиновим синім. $\times 1000$.

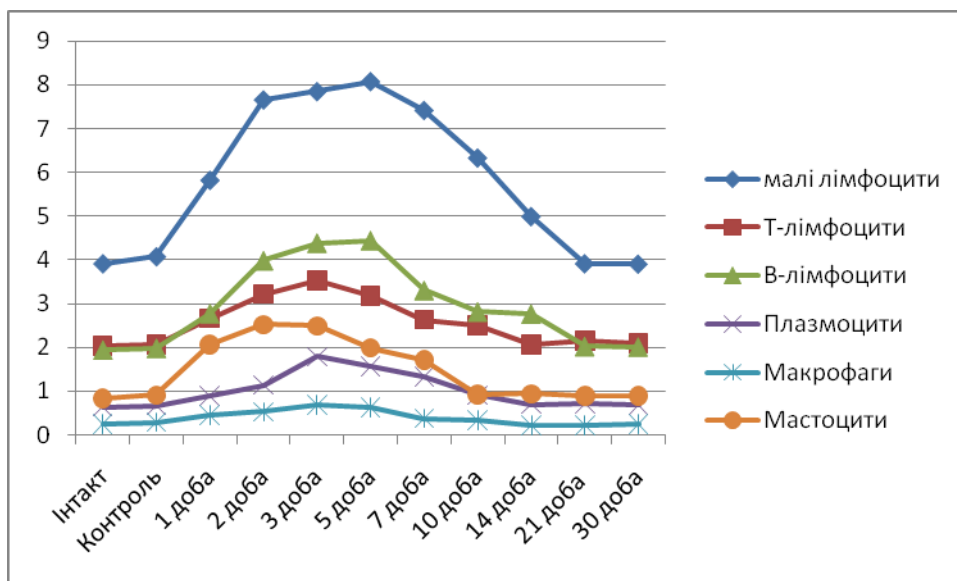


Рис. 5. Зміни кількості клітин дифузної лімфоїдної тканини слизової оболонки фундального відділу шлунка при введенні препарату «Платекс-плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту.

Висновки

1. В результаті проведеного дослідження встановлено, що сама процедура введення препарату «Платекс-плацентарний» та λ -карагінена не викликає кількісних змін клітинного складу дифузної лімфоїдної тканини слизової оболонки фундального відділу шлунка (порівняння інтактної та контрольних груп тварин).

2. При експериментальному гострому гастриті проходить формування активної імунної реакції за гуморальним типом і термін її реалізації досить тривалий.

3. При введенні препарату «Платекс-плацентарний» відбувається активація гуморального імунітету на ранньому терміні експерименту із швидкою нормалізацією клітинного складу дифузної лімфоїдної тканини слизової оболонки фундального відділу шлунка.

4. При поєднаній дії препарату «Платекс-плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту встановлено, що даний препарат, як джерело високоактивних біологічних речовин, прискорює реакцію гуморального імунітету, а сам процес структурно-компенсаторних реакцій на гострий експериментальний гастрит оптимізується вже на 21-шу добу експерименту.

Перспективи подальших розробок

В подальшій роботі планується встановити місце та роль дифузної лімфоїдної тканини слизової оболонки воротарного відділу шлунка в запальних процесах, що відбуваються під час змодельованого гострого експериментального гастриту, при введенні препарату «Платекс-плацентарний», та при введенні препарату «Платекс-плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту.

Літературні джерела

Грищенко В. И. Аспекты создания новых криобиологических технологий и перспективы реализации в Украине / Грищенко В. И., Суббота Н. П. // Журн. НАН. – 2000. – № 4. – С. 25–28.

Калинюк І. Г. Порівняльна характеристика клітинного складу лімфоїдних структур різних частин шлунка білих статевозрілих щурів / Калинюк І. Г. // Науковий вісник Ужгородського університету. – 2005. – Вип. 24. – С. 14–18.

Ноздрачев А. Д. Анатомия крысы (лабораторные животные) / под ред. академика А. Д. Ноздрачева. – СПб. : «Лань», 2001. – 464 с.

Субпопуляции Т-лимфоцитов в центральных и периферических лимфоидных органах при воспалении / В. И. Коненков, Т. И. Дергачева, А. В. Шурлыгина [и др.] // Иммунология. – 2009. – № 2. – С. 101–104.

Труфакин В.А. Функциональная морфология клеток иммунной системы в эксперименте и клинике / В. А. Труфакин, М. В. Робинсон, А. В. Шурлыгина // Морфология. – 2005. – №4. – С. 20–24.

Билаш С.М. Морфофункциональная характеристика диффузной лимфоидной ткани слизистой оболочки фундального отдела желудка при остром экспериментальном гастрите, введении препарата «Платекс-плацентарный» и их совместном действии.

Резюме. В исследовании изучены особенности локализации и количественные изменения иммунокомпетентных клеток диффузной лимфоидной ткани слизистой оболочки фундального отдела желудка при остром экспериментальном гастрите, введении препарата «Платекс-плацентарный» и их совместном действии. Установлено, что при остром экспериментальном гастрите иммунный ответ проходит по гуморальному типу с активацией всех клеточных элементов диффузной лимфоидной ткани. При введении препарата «Платекс-плацентарный» иммунные реакции проходят лишь в ответ на препарат как гетеротрансплантат на ранних сроках эксперимента. При введении препарата «Платекс-плацентарный» на фоне острого экспериментального гастрита иммунные реакции в слизистой оболочке желудка проходят толерантнее и быстрее.

Ключевые слова: слизистая оболочка желудка, острый экспериментальный гастрит, препарат «Платекс – плацентарный» диффузная лимфоидная ткань.