

УДК 616.33 – 002.1 – 092.9: 615.36

С.М. Білан

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

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІМФОЇДНИХ ВУЗЛИКІВ СЛИЗОВОЇ
ОБОЛОНКИ ФУНДАЛЬНОГО ВІДДІЛУ ШЛУНКА ПРИ ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ
ГАСТРИТІ ТА ВВЕДЕННІ ПРЕПАРАТУ «ПЛАТЕКС – ПЛАЦЕНТАРНИЙ».**

В роботі вивчені механізми імунних реакцій та кількісні зміни імунокомпетентних клітин, які відбуваються у лімфоїдних вузликах слизової оболонки фундального відділу шлунка при гострому експериментальному гастриті, введенні препарату «Платекс – плацентарний» та введенні препарату «Платекс – плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту вони проходили швидше та толерантніше.

Ключові слова: шлунок, гострий експериментальний гастрит, препарат «Платекс – плацентарний», лімфоїдних вузлик, імунокомпетентні клітини.

Робота є фрагментом науково – дослідної роботи ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України: "Експериментально – морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів" (номер державної реєстрації 0108U001572)

Імунна система об'єднує органи і тканини, які забезпечують захист організму від генетично чужорідних клітин або речовин, що надходять ззовні або утворюються в організмі. Органи імунної системи складаються з лімфоїдної тканини, яка є «робочою» паренхімою органів імуногенезу, може бути дифузною і у вигляді лімфоїдних вузликів асоційованих з слизовими оболонками та виконує функцію охорони постійного стану внутрішнього середовища організму на протязі усього життя індивіда [1]. Клітинна компонента, лімфоїдної тканини представлена імунокомпетентним клітинами: у першу чергу малими лімфоцитами, а також плазмочитами, котрі включаючись в імунний процес, забезпечують розпізнавання і знищення клітин, які проникли в організм або утворилися в ньому, та інших чужорідних речовин, які несуть в собі ознаки генетично чужорідної інформації; Т- і В-лімфоцитами, які функціонують сумісно і за участю макрофагів забезпечують імунну реакцію в організмі. [5]. Виходячи з важливості лімфоїдної тканини асоційованої з слизовою оболонкою шлунка виникає потреба в детальному вивченні її при різних видах запальних процесів, а пошук нових методик їх корекції набуває актуального значення.

Метою роботи було встановлення особливостей локалізації та кількісних змін, які відбуваються у лімфоїдних вузликах слизової оболонки фундального відділу шлунка при гострому експериментальному гастриті, введенні препарату «Платекс – плацентарний» та введенні препарату «Платекс – плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту.

Матеріал і методи дослідження. Об'єктом експериментального дослідження була стінка шлунка, котра вилучена від 175 статевозрілих щурів-самців лінії «Вістар». Експеримент був проведений згідно з «Правилами використання лабораторних експериментальних тварин» (2006, додаток 4) і Гельсінської 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 1мл фізіологічного розчину; третя контрольна група – 10 тварин, яким був зроблений розріз на зовнішній поверхні стегна; четверта контрольна група – 10 тварин, яким вводився внутрішньоочередово 1мл 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 доби експерименту). Фундальна частина шлунку визначалась, як середня частина шлунку з боку великої кривизни, що безпосередньо примикала до стравохідної частини [6]. Фрагменти стінки фундального відділу шлунку ущільнювали в парафін та епоксидну смолу за загальноприйнятими методиками. Парафінові зрізи фарбували гематоксилін еозином 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 [4]; лектин сої – для ідентифікації В-лімфоцитів [2,3], а також лектини сочевиці, зародків пшениці, ікри окуня, виноградного равлика, кори бузини чорної.

Результати дослідження та їх обговорення. Лімфоїдні утворення у фундальному відділі слизової оболонки шлунка були представлені лімфоїдними вузликами, які розташовувались в 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.

Більшість лімфоїдних вузликів мали трикутну, овальну, круглу або стрічкоподібну форму і, в основному, були сконцентровані в ділянці між дном власних залоз і м'язовою пластинкою. Вони утворювали захисну лінію від дії антигенів, та інших чужорідних компонентів, що потрапляли у шлунок з їжею. Дрібні лімфоїдні вузлики розміщувались під базальною мембраною епітелію і особливо їх багато визначено біля судин гемомікроциркуляторного руслу.

У складі лімфоїдних вузликів визначались: малі, середні та великі лімфоцити, плазмоцити, макрофаги. Імуногістохімічно нами виявлені Т- та В- лімфоцити. У інтактних щурів у відсотковому співвідношенні малі лімфоцити склали 49,5%, Т- лімфоцити 19,3%, В- лімфоцити – 25,2%, плазмоцити – 3,7%, макрофаги – 2,3%.

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 достовірна 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.

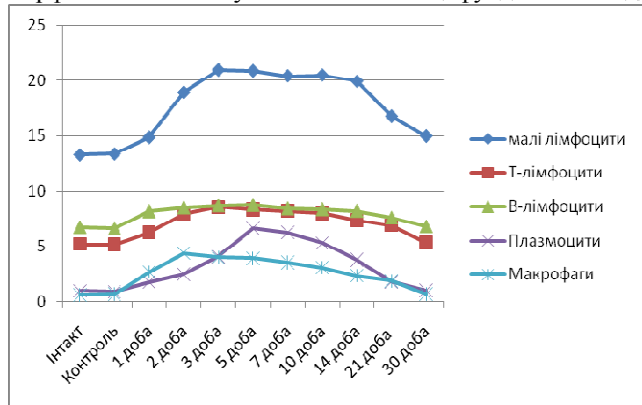


Рис.1. Зміни кількісних показників імунокомпетентних клітин слизової оболонки фундального відділу шлунка при гострому експериментальному гастриті.

Кількість В-лімфоцитів теж збільшувалась з 1-ї доби спостереження і максимальних значень набувала на 3-тю добу (збільшувалась 1,3 рази). Кількість плазмоцитів збільшувалась теж з 1-ї доби спостереження, тримаючись на високому рівні з 3-ї по 10-ту добу але максимальний коефіцієнт їх збільшення був на 5-ту добу і складав 7,4 що свідчить про активні процеси синтезу антитіл і нейтралізації антигенів. Зміни кількості макрофагів були теж реактивними і суттєвими. Їх максимальна кількість була на 2-гу добу експерименту і коефіцієнт збільшення був у 6,5 разів і пояснюється тим, що запалення вступило в макрофагальну фазу, а самі макрофаги активно фагоцитували зруйновані процесом запалення клітинні елементи.

Аналіз морфометричних показників у шостій експериментальній групі тварин показав (рис. 3), що імунні реакції були менш значущими і толерантнішими та проходили за гуморальним типом лише на ранніх строках спостереження. Кількість малих лімфоцитів максимально збільшувалась на 5-ту добу експерименту лише у 1,2 рази, а з 10-ї доби спостереження їх кількість набували показників контрольної групи тварин. Т-лімфоцити свого максимального збільшення (всього у 1,2 рази) сягали на 3-тю добу і до показників контрольної групи наближались вже на 7-му добу експерименту. В-лімфоцити максимальних значень набували теж на 3-тю добу (незначно збільшились у 1,1 раз), з 5-ї по 7-му добу тримались на такому ж рівні, а з 10-ї доби набували показників контрольної групи тварин. Плазмоцити свого максимального значення сягали на 7-му добу спостереження, збільшуючись у 2,5 рази, а показників контролю набували з 10-ї доби спостереження. Макрофаги максимального збільшення сягали на 5-ту добу і збільшуючись у 3,1 рази, та показників контрольної групи тварин набували з 10-ї доби (рис. 4).

Такі імунні реакції в лімфоїдних вузликах слизової оболонки фундального відділу шлунка на ранніх термінах спостереження пояснюються тим, що препарат «Платекс – плацентарний» є гетеротрансплантатом, а сама імунна реакція проходить значно швидше і уся кількісні показники до 10-ї доби спостереження набували показників контрольної групи тварин.

У сьомій експериментальній групі тварин (рис. 5) імунні реакції у лімфоїдних вузликах проходили швидше та толерантніше в порівнянні з п'ятою експериментальною групою тварин. Кількість малих лімфоцитів високого рівня набувала з 3-ї по 5-ту добу, максимуму сягала на 3-тю добу і збільшувалась у 1,6 разів. Кількість Т- і В-лімфоцитів максимуму сягали на 3-тю добу (збільшились у 1,4 і 1,2 разів відповідно) та тримались на високому рівні з 3-ї по 7-му добу експерименту (рис. 6).

Кількість плазмоцитів максимальною була на 5-ту добу спостереження (збільшилась у 6,2 разів), а високій їх рівень спостерігався з 3-ї по 7-му добу. Це свідчить про активні процеси синтезу антитіл та

Аналіз клітинного складу лімфоїдних вузликів, у п'ятій експериментальній групі тварин (рис. 1), показав, що кількісні зміни імунокомпетентних клітин мають реактивний характер і кількість малих лімфоцитів, Т- та В- лімфоцитів плазмоцитів та макрофагів до кількісних показників контрольної групи тварин не наближалась до кінця терміну спостереження, що свідчить про продовження перебігу запального процесу у слизовій оболонці фундального відділу шлунка навіть після 30-ї доби спостереження. Так кількість малих лімфоцитів почала збільшуватись з 1-ї доби експерименту, трималась на високому рівні з 3-ї по 10-ту добу і максимальних значень набувала на 3-тю добу експерименту (збільшилась у 1,5 разів). Аналогічна картина відбувалась і з Т-лімфоцитами - максимальне збільшення було на 5-ту добу і складало 1,6 (рис. 2).

зв'язування антигенів в ці терміни експерименту. Кількість макрофагів високою була з 2-ї по 5-ту доби спостереження, максимуму сягала на 3-тю добу і збільшувалась у 6,5 разів (рис. 7). Але порівняно з п'ятою експериментальною групою Т- і В-лімфоцити наближались до показників контролю вже на 14-ту добу експерименту, а кількість малих лімфоцитів, макрофагів та плазмочитів до показників контролю наближались на 21 добу спостереження.

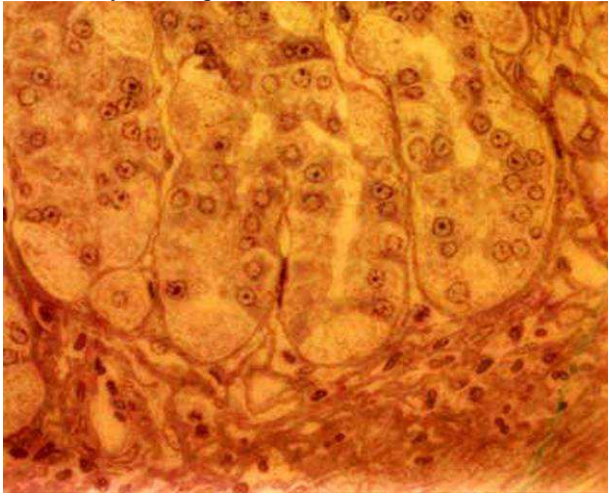


Рис.2. Т-клітинна субпопуляція лімфоцитів у лімфоїдному вузлику власної пластинки слизової оболонки фундального відділу шлунка на 5-ту добу експерименту при гострому експериментальному гастриті. Лектинохімічна реакція обробка лектином арахісу (PNA). Парафіновий зріз, об.х100, ок. х 10.

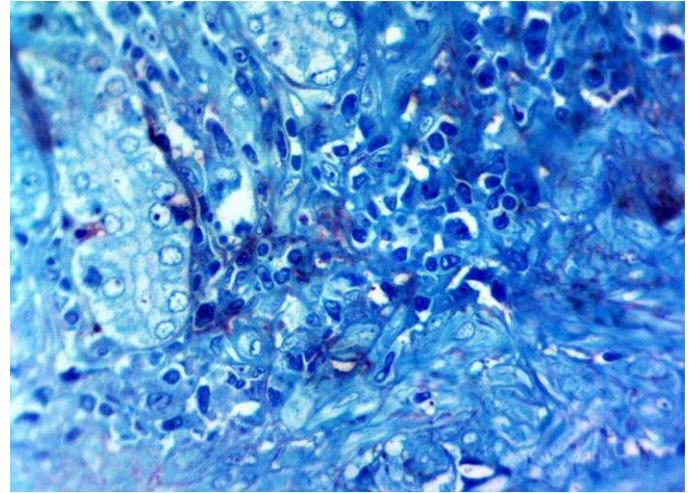


Рис.4. Лімфоїдний вузлик у власній пластинці слизової оболонки фундального відділу шлунка на 3-тю добу експерименту при введенні препарату «Платекс – плацентарний». Забарвлення поліхромним барвником. Напівтонкий зріз, об.х100, ок. х 10.

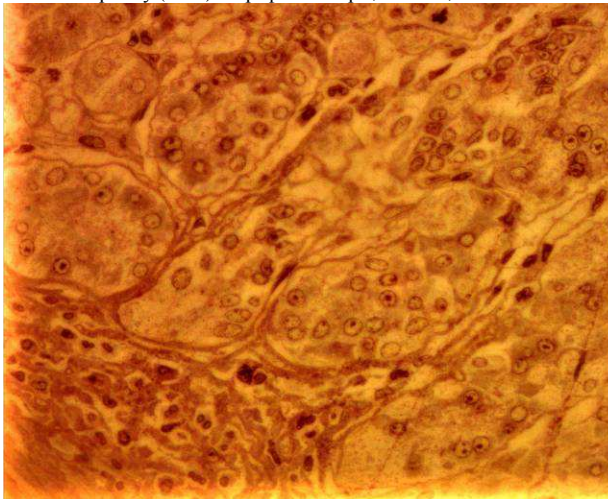


Рис.6. Т-клітинна субпопуляція лімфоцитів у лімфоїдному вузлику власної пластинки слизової оболонки фундального відділу шлунка та між власними залозами на 3-тю добу експерименту при введенні препарату «Платекс – плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту. Лектинохімічна реакція обробка лектином арахісу (PNA). Парафіновий зріз, об.х100, ок. х 10.

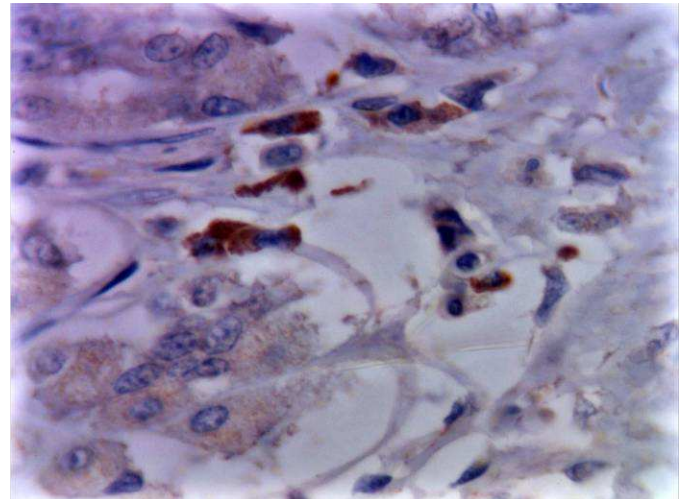


Рис.7. Скупчення макрофагів у власній пластинці слизової оболонки фундального відділу шлунка на 3-тю добу експерименту при введенні препарату «Платекс – плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту. Імуногістохімічна реакція обробка антитілами до антигенів щура mouse monoclonal [SP6] to CD68. Парафіновий зріз, об.х100, ок. х 10.

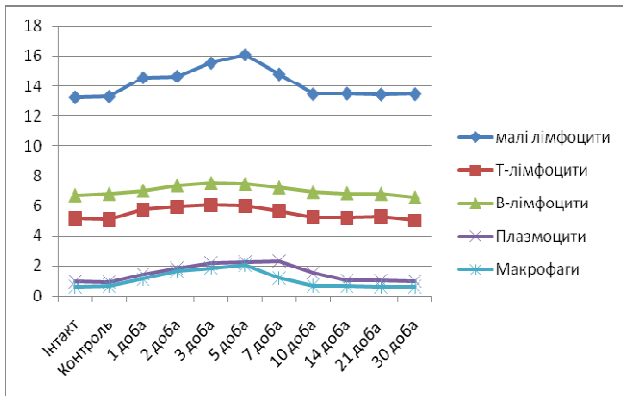


Рис. 3. Зміни кількісних показників імунокомпетентних клітин лімфоїдних вузликів слизової оболонки фундального відділу шлунка при введенні препарату «Платекс – плацентарний».

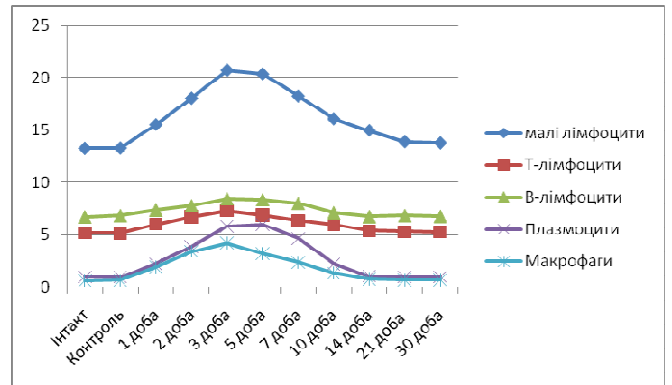


Рис.5. Зміни кількості імуноцитів лімфоїдних вузликів слизової оболонки фундального відділу шлунка при введенні препарату «Платекс – плацентарний» на тлі гострого гастриту.

Такі зміни імунокомпетентних клітин у лімфоїдних вузликах свідчать про те, що за участю препарату «Платекс – плацентарний» реалізація запалення у слизовій оболонці фундального відділу шлунка проходить значно швидше за рахунок дії біологічно – активних речовин, що містить в собі кріоконсервована плацента.

Висновки

1. 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 гострому експериментальному гастриті імунні реакції, за участю усіх імунокомпетентних клітин, проходили за гуморальним типом і кількісні показники цих клітин до показників контрольної групи тварин не наближались навіть до кінця експерименту.
3. Динаміка кількісних змін імунокомпетентних клітин, при гострому експериментальному гастриті, свідчить про продовження запального процесу у слизовій оболонці фундального відділу шлунка після 30-ї доби експерименту.
4. При введенні препарату «Платекс – плацентарний» відбувається активація гуморального імунітету, на ранні терміни експерименту, із швидкою нормалізацією клітинного складу лімфоїдних вузликів у відповідь на введення препарату як гетеротрансплантату.
5. При введенні 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 у відповідь на гострий експериментальний гастрит оптимізується вже до 21-ої доби експерименту.

Перспективи подальших розробок. В подальшому планується вивчення особливості локалізації та кількісні зміни, які відбуваються у лімфоїдних вузликах слизової оболонки воротарного відділу шлунка при гострому експериментальному гастриті, введенні препарату «Платекс – плацентарний» та введенні препарату «Платекс – плацентарний» на тлі гострого експериментального гастриту.

Література

1. Волошин Н.А. Внутритрубноное введение антигена – модель для изучения роли лимфоцитов в процессах морфогенеза внутренних органов / Н. А. Волошин, Е. А. Григорьева, О.Г. Куц, М. Б. Вовченко, А. О., Светлицкий С. В. Чугин // Запорож. мед. журн. – 2005. – № 3. – С. 12.
2. Волошин М. А. Декларацийний патент на корисну модель № 13282 Україна, МПК (2006) G 01N 21/00. Спосіб виявлення В-лімфоцитів в гістологічних препаратах / Волошин М. А., Куц О. Г.; заявник і патентовласник Запорізький державний медичний університет. – № u 2005 09959; заявл. 24.10.2005; опубл. 15.03.2006, Бюл. № 3.
3. Волошин М. А. Виявлення В-лімфоцитів у плаценті при резус-ізоїмунному конфлікті матері та плоду / М. А. Волошин, О. Г. Куц // Вісник морфології. – 2007. – № 13 (2). – С. 290–293.
4. Куц О. Г. Кількісний та якісний склад лімфоцитів децидуальної тканини матки породіть при фізіологічно перебігаючий вагітності та при пізніх гестозах / О. Г. Куц, М. А. Волошин // Вісник наук. досліджень. – 2006. – № 3 (44). – С. 16–18.
5. Куц О. Г. Особливості будови і реактивності лімфоїдної тканини, асоційованої з децидуальною тканиною / О. Г. Куц, М. А. Волошин // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2007. – № 2 (7). – С. 105–107.
6. Ноздрачев А.Д., Анатомия крысы (лабораторные животные) / под ред. академика А.Д.Ноздрачева.– СПб.: «Лань», 2001.– 464 с.

Реферати

СТРУКТУРНО - ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИМФОИДНЫХ УЗЕЛКОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ФУНДАЛЬНОГО ОТДЕЛА ЖЕЛУДКА ПРИ ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГАСТРИТЕ И ВВЕДЕНИИ ПРЕПАРАТА «ПЛАТЕКС – ПЛАЦЕНТАРНЫЙ»

Билаш С.М.

В работе изучены механизмы иммунных реакций и количественные изменения иммунокомпетентных клеток, которые происходят в лимфоидных узелках слизистой оболочки фундального отдела желудка при остром экспериментальном гастрите, введении препарата «Платекс – плацентарный» и введении препарата «Платекс – плацентарный» на фоне острого экспериментального гастрита.

Установлено, что иммунные реакции проходили по гуморальному типу. При введении препарата «Платекс – плацентарный» на фоне острого экспериментального гастрита они протекали быстрее и толерантнее.

Ключевые слова: желудок, острый экспериментальный гастрит, препарат «Платекс – плацентарный», лимфоидный узелок, иммунокомпетентные клетки.

Стаття надійшла 15.10.2012 р.

STRUCTURE FUNCTIONAL DESCRIPTION OF LYMPH NODES OF MUCOSA OF STOMACH'S FUNDAL DEPARTMENT AT ACUTE EXPERIMENTAL GASTRITIS AND INTRODUCTION OF PREPARATION "PLATEX - PLACENTAL"

Bilash S.M.

The mechanisms of immunoreactions and quantitative changes of immunocompetency cells which take place in the lymph nodes of mucosa of stomach's fundal department at acute experimental gastritis are in-process studied, introduction of preparation "Platex - placental" and introduction preparation "Platex - placental" on a background acute experimental gastritis.

It is set, that immunity reactions passed on a humoral type. At influence of preparation "Platex - placental" on a background acute experimental gastritis they flowed quicker and more tolerant.

Key words: stomach, acute experimental gastritis, preparation "Platex - placental", lymph node, immunocompetency cells.

Рецензент проф. Бобирьова Л.С.