

ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНИХ ЕЛЕМЕНТІВ СТІНКИ НОСОВОЇ ЧАСТИНИ ГЛОТКИ ЩУРІВ В ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ ДІЇ АНТИГЕНА

Матвєйшина Т.М.

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, Україна

Ключові слова: поверхневий епітеліоцит, вставковий епітеліоцит, базальний епітеліоцит, келихоподібна клітина, базальна мембрana, підслизова основа, носова частина глотки

Вступ. Останніми роками питома вага захворювань органів дихання у дітей невпинно зростає. Тому вивчення патогенезу, поширеності та профілактики захворювань дітей раннього віку є важливим компонентом національних програм збереження здоров'я населення та основою профілактичної медицини. Екзо- та ендогенні фактори, що впливають на материнський організм під час вагітності, призводять до порушення морфогенезу внутрішніх органів, що проявляється дисбалансом чітко детермінованої просторової структури тканин. В основі дисбалансу лежить порушення адгезії, міграції, проліферації клітин, міжклітинних та клітинно-матриксних взаємовідносин [2].

Недостатнім лишається вивчення ролі імунних механізмів, що здійснюють контроль за диференціюванням та дозріванням клітин організму в умовах внутрішньоутробного антигенноного навантаження. Антенатальне інфікування вірусним або бактеріальним агентом під час вагітності, що виникає у випадку наявності порушень у системі мати-плацента-плід, викликає слабкість первинної імунної відповіді плода та новонародженого, що сприяє розвитку патологічних станів, пов'язаних з вторинним інфікуванням [7,8].

Часті епідемії грипу зумовили проведення вакцинації серед вагітних жінок для профілактики пандемічного грипу за наявності необхідної кількості вакцини, тому питання дослідження морфологічних змін стану імунної системи плода в умовах підвищеного антигенноого вірусного навантаження на материнський організм залишається підкреслено актуальним.

Мета роботи. Вивчити морфометричні та гістохімічні особливості стінки носової частини глотки щурів в нормі та після внутрішньоутробної дії антигена.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження стали 178 щурів лінії Wistar на 1, 3, 7, 14, 21, 45 та 90 добу життя. Тварини були поділені на чотири групи: перша група – інтактні, тваринам другої групи на 18-ту добу датованої вагітності внутрішньоплідно було введено антиген за методом Волошина М.А. (2010), тваринам третьої групи на 18-ту добу датованої вагітності було введено антиген в

навколоплідні води за методом Волошина М.А. (2011), контролем слугували тварини четвертої групи, яким на 18-ту добу датованої вагітності було введено внутрішньоплідно фізіологічний розчин. Через трохи вірусу грипу до слизової оболонки дихальних шляхів в якості антигена було використано спліт-вакцину ваксігрип для профілактики грипу інактивовану рідку. При роботі з експериментальними тваринами керувалися “Європейською конвенцією по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, 18.03.86).

Матеріал фіксували у рідині Буена. Гістологічну обробку матеріалу проводили стандартним методом. Парафінові серійні зразки товщиною 5-6 мкм фарбували реактивом Шиффа з дофарбуванням ядер гематоксилю Ерліха. Для ферментативного контролю використовували розчин α -амілази. За допомогою окуляр-мікрометра вимірювали товщину стінки носової частини глотки. Однією з вимірювань слугували мікрометри. Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням програми statistica 6.0 та вважали статистично вірогідними, якщо $p \leq 0.05$. Різницю між двома середніми оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента-Фішера. Кількість ШІК-позитивних речовин в зразках визначали за інтенсивністю забарвлення слизу, келихоподібних клітин, епітеліоцитів одношарового однорядного епітелію, поверхневих епітеліоцитів, базальних епітеліоцитів, вставкових епітеліоцитів одношарового багаторядного епітелію, базальної мембрани, міжклітинної речовини сполучної тканини (+++ – бордо-червоне забарвлення, ++ – червоне, + – рожево-червоне, – блідо-рожеве, 0 – відсутність забарвлення). Вміст глікогену визначали шляхом оцінки різниці між кількістю ШІК-позитивних речовин в препаратах, попередньо оброблених α -амілазою.

Результати дослідження та їх обговорення. На першу добу життя слизова оболонка дорзальної стінки носової частини глотки представлена одношаровим однорядним війчастим плоским епітелієм, який на бокових стінках переходить в одношаровий однорядний війчастий кубічний,

який в свою чергу переходить в одношаровий багаторядний війчастий призматичний епітелій, що переважно вистилає центральну стінку носової частини глотки. Протягом періоду з 3 до 7 доби життя слизова оболонка дорзальної стінки вкрита одношаровим однорядним війчастим кубічним епітелієм, який на бокових та центральній стінках носової частини глотки переходить в одношаровий багаторядний війчастий призматичний епітелій. Починаючи з 14 доби життя війчастий кубічний епітелій заміщується одношаровим однорядним війчастим призматичним епітелієм, який на бокових та центральній стінках переходить в одношаровий багаторядний призматичний епітелій.

Підслизова основа представлена пухкою волокнистою неоформленою сполучною тканиною, що протягом всіх строків спостереження зрощена безпосередньо з окістям твердого піднебіння та основи черепа. М'язовий шар стінки носової частини глотки відсутній.

На першу добу постнатального життя висота одношарового однорядного епітелію у тварин інтактної групи становить $13,78 \pm 0,274$ мкм, а товщина підслизової основи на рівні дорзальної стінки – $64,37 \pm 3,289$ мкм (табл. 1).

У тварин експериментальних груп виявлено деяке зменшення висоти одношарового однорядного епітелію носової частини глотки – $13 \pm 0,458$ мкм та $13,18 \pm 0,36$ мкм після введення антигена внутрішньоплідно та в навколоплідні води відповідно, у порівнянні з інтактними тваринами. Водночас у антигеннемізованих тварин збільшується висота одношарового багаторядного епітелію носової частини глотки – $21,41 \pm 0,263$ мкм та $21,46 \pm 0,222$ мкм відповідно у тварин II та III групи проти $20,92 \pm 0,105$ мкм у тварин I групи. Виявлена тенденція до збільшення товщини підслизової основи на рівні одношарового багаторядного епітелію у тварин, які отримали в антенатальному періоді антиген, у порівнянні з інтактними тваринами ($69,89 \pm 1,647$ мкм у тварин II групи, $68,86 \pm 5,337$ мкм у тварин III групи, проти $64,62 \pm 3,427$ мкм у тварин I групи).

На третю добу життя висота одношарового однорядного епітелію збільшується у тварин експериментальних груп статистично вірогідно у порівнянні з тваринами інтактної групи ($13,67 \pm 0,101$ мкм та $13,84 \pm 0,142$ мкм у тварин II та III групи відповідно проти $13,12 \pm 0,213$ мкм у тварин інтактної групи). Одночасно виявлена тенденція до збільшення висоти одношарового багаторядного епітелію у тварин експериментальних груп, більш виражена у тварин, яким антиген було введено внутрішньоплідно в антенатальному періоді. Статистично вірогідне збільшення товщини підслизової основи на рівні одношарового однорядного епітелію та одношарового багаторядного епітелію протягом описаного терміну спостерігається по відношенню до контролю у тварин, яким антиген в антенатальному періоді було введено в навколоплідні води.

Протягом 3–7 доби життя виявлено прискорення темпів збільшення висоти одношарового однорядного епітелію у тварин експериментальних груп, більше виражене у тварин, яким антиген антенатально введено в навколоплідні води. На 14 добу спостереження темпи приросту висоти епітелію дорзальної стінки носової частини глотки прискорюються у тварин II групи не тільки по відношенню до

інтактних тварин, але й у порівнянні з тваринами III групи. Починаючи з 21 доби життя у вакциномізованих тварин у порівнянні з інтактними, темпи збільшення висоти одношарового однорядного епітелію сповільнюються. Встановлена різниця більш виражена у тварин, яким антиген введено в навколоплідні води, ніж у тварин, яким антиген введено внутрішньоплідно. На 90 добу життя темпи збільшення висоти епітелію інтактних тварин прискорюються у порівнянні з експериментом ($13,73 \pm 0,043$ мкм у тварин I групи, $13,73 \pm 0,193$ мкм та $13,41 \pm 0,358$ мкм у тварин II та III групи відповідно).

Протягом 7–45 доби життя темпи збільшення висоти одношарового багаторядного епітелію сповільнюються у тварин експериментальних груп у порівнянні з інтактними тваринами. До 90 доби життя встановлена різниця практично нівелюється.

Період 7–45 доби життя характеризується відставанням темпів приросту товщини підслизової основи у тварин експериментальних груп на рівні одношарового однорядного та одношарового багаторядного епітелію у порівнянні з тваринами інтактної групи. До 90 доби життя встановлена різниця практично нівелюється.

У новонароджених інтактних тварин найбільша кількість ШІК-позитивних речовин визначається в слизу та секреті келихоподібних клітин одношарового однорядного війчастого епітелію та одношарового багаторядного війчастого епітелію. У тварин експериментальних груп вміст глікопротеїнів в секреті келихоподібних клітин та слизу зменшується. Попередня обробка зрізів а-амілазою дозволила виявити наявність амілазолабільних глікопротеїнів в секреті келихоподібних клітин та слизу, причому менший їх вміст виявляється у тварин, яким антиген введено в навколоплідні води не тільки у порівнянні з інтактними тваринами, але й з тваринами, яким антиген введено внутрішньоплідно. Починаючи з 3 до 14 доби життя кількість ШІК-позитивних речовин в секреті келихоподібних клітин інтактних тварин зменшується. На 21 добу життя спостерігається підвищення глікопротеїнів в описуваних структурах. У тварин, яким антенатально антиген введено внутрішньоплідно підвищення кількості ШІК-позитивних речовин спостерігається з 3 доби життя та зберігається до 45 доби життя включно з наступним зниженням їх кількості до 90 доби. У тварин, яким антиген введено в навколоплідні води збільшення глікопротеїнів в секреті келихоподібних клітин спостерігається з 21 доби життя і зберігається до 90 доби життя включно.

У інтактних тварин найбільш інтенсивне відкладення ШІК-позитивних речовин в цитоплазмі епітеліоцитів одношарового однорядного епітелію, а також поверхневих, базальних та вставкових епітеліоцитів одношарового багаторядного епітелію спостерігається на 1 добу життя, причому в цитоплазмі базальних та вставкових епітеліоцитів більше, ніж в епітеліоцитах одношарового багаторядного епітелію. Надалі спостерігається зниження інтенсивності забарвлення до 14 доби життя включно, на 21 добу – децю підвищення інтенсивності з наступним зниженням до 90 доби життя. У тварин II групи кількість ШІК-позитивних речовин в цитоплазмі епітеліоцитів, базальних та вставкових епітеліоцитів поступово знижується

Динаміка товщини стінки носової частини глотки в нормі та після внутрішньоутробної дії антигена, мкм (M±m)**Таблиця 1**

Доба життя	Група спостере- ження	На рівні одношарового однорідного війчастого епітелію		На рівні одношарового багаторядного війчастого епітелію		Загальна товщина стінки
		Висота епітелію	Товщина підслизової основи	Загальна товщина стінки	Висота епітелію	
1	I	13,77±0,274	64,37±3,289	78,15±3,093	20,92±0,106	64,62±3,427
	II	13,01±0,459	69,89±1,647	82,9±1,712	21,41±0,263	69,89±1,647
	III	13,18±0,361	68,86±5,337	82,03±5,454	21,46±0,222	68,86±5,337
	IV	13,23±0,096	70,98±0,79	84,22±0,856	20,83±0,206	70,98±0,79
3	I	13,12±0,213	58,77±7,305	71,89±7,399	21,41±0,124	58,31±7,206
	II	13,67±0,101*	64,55±3,887	78,22±3,838	21,56±0,329	64,56±4,345
	III	13,84±0,142*	71,93±2,965**	85,77±2,937**	21,22±0,079	71,93±2,965**
	IV	13,57±0,275	57,08±2,295	70,65±2,185	21,08±0,179	57,08±2,295
7	I	13,44±0,434	70,02±3,38	83,39±3,417	21,79±0,256	70,02±3,38
	II	13,49±0,103	66,47±3,239	79,97±3,225	21,22±0,146	66,47±3,239
	III	13,8±0,392	67,33±0,474**	81,13±0,613**	21,36±0,097	67,33±0,474**
	IV	13,03±0,25	73,43±1,102	86,46±1,331	21,42±0,199	74,35±0,98
14	I	12,85±0,226	69,02±3,681	81,87±3,614	21,82±0,025	65,77±3,758
	II	13,52±0,164*	68,08±3,198	81,61±3,219	21,09±0,033*	67,01±3,599
	III	13,12±0,427	64,17±2,615**	77,29±2,339**	21,18±0,11*	64,17±2,615**
	IV	13,17±0,193	73,05±0,924	86,22±0,769	21,48±0,193	72,78±1,235
21	I	13,68±0,324	60,25±4,051	73,93±4,011	21,74±0,113	60,25±4,051
	II	13,58±0,194	63,92±4,349	77,49±4,234	21,07±0,163*	63,92±4,349
	III	13,17±0,525	57,08±6,081	70,26±5,982	21,21±0,107*	57,08±6,051
	IV	13,11±0,162	60,72±7,257	73,83±7,303	21,56±0,151	60,72±7,257
45	I	13,24±0,407	64,67±4,985	77,91±4,713	21,11±0,077	64,47±4,891
	II	13,59±0,252	38,42±6,618*	52,02±6,421*	21,04±0,125	38,42±6,618*
	III	13,48±0,285	36,55±5,942*	50,03±5,777*	21,04±0,152	36,55±5,942*
	IV	13,77±0,466	57,63±1,071	71,39±1,049	20,95±0,154	57,63±1,071
90	I	14,17±0,043	48,43±5,927	62,61±5,925	21,03±0,192	48,43±5,928
	II	13,73±0,193	54,36±6,078	68,1±6,147	21,04±0,184	54,36±6,078
	III	13,41±0,358	58,92±6,954	73,33±6,945	21,16±0,199	58,37±6,676
	IV	13,84±0,149	49,34±9,267	63,18±9,137	20,62±0,147	49,34±9,267

Примітка: I – ін tactні тварини, II – тварини, яким внутрішньопідліно введено антиген, III – тварини, яким антиген введено в навколошлункові відділи, IV – контроль. Символ * означає, що результат статистично вірогідний по відношенню до інтактної групи, символ ** означає, що результат статистично вірогідний по відношенню до контрольної групи тварин. Значення наведені в якості “середнє±стандартна похибка”

протягом перших трьох діб життя. Надалі спостерігається хвилеподібна динаміка змін інтенсивності забарвлення цитоплазми епітеліоцитів одношарового однорядного епітелію – дещо підвищення на 7 та 21 добу життя та зниження протягом інших строків спостереження. У тварин, яким антиген введено в навколоплідні води, найбільша кількість ШІК-позитивних речовин в цитоплазмі епітеліоцитів одношарового однорядного спостерігається на 1 добу життя з наступним зниженням до 14 доби. Протягом періоду 21–45 доби спостерігається підвищення вмісту глюкопротеїдів з наступним зниженням до 90 доби життя. Динаміка вмісту ШІК-позитивних речовин в цитоплазмі поверхневих, базальних та вставкових епітеліоцитів одношарового багаторядного епітелію характеризується поступовим зниженням протягом 90 діб життя як у інтактних, так і у тварин обох експериментальних груп.

Кількість глікопротеїнів базальної мембрани одношарового епітелію поступово знижується протягом періоду з 1 до 90 доби життя як у інтактних, так і у експериментальних тварин. Дещо підвищення вмісту ШІК-позитивних речовин в базальній мембрані одношарового багаторядного епітелію відмічається у інтактних тварин на 21 добу життя. На 90 добу життя базальна мембрана одношарового епітелію тварин всіх досліджуваних груп реактивом Шиффа не забарвлюється.

Максимальна кількість відкладення глікопротеїнів в міжклітинній речовині сполучної тканини тварин всіх досліджуваних груп спостерігається на 1 добу життя з поступовим зменшенням до 90 життя.

Наявність аміазостабільних глікопротеїнів виявляється у всіх структурах стінки носової частини глотки протягом всіх термінів спостереження за винятком базальної мембрани одношарового епітелію. Забарвлення після обробки зрізів а-аміазою базальної мембрани одношарового однорядного та одношарового багаторядного епітелію зберігається лише на 1 та 7 добу життя, протягом інших термінів спостереження воно відсутнє.

Таким чином, розподіл та склад глікопротеїнів структур стінки носової частини глотки змінюються протягом перших трьох місяців після народження, що пов'язано з продовженням процесу морфогенезу та дозрівання епітелію після народження, локомоторною функцією війок та процесами виділення слизу, що виконує захисну функцію [1,5]. Розподіл та склад глікопротеїнів епітелію носової частини глотки відображають ступінь його диференціювання та функціональної активності епітеліоцитів та можуть слугувати одним з критеріїв функціональної активності епітелію [4,9]. Внутрішньоутробне введення антигена плодам змінює функціональну активність клітин епітеліальної тканини, що змінює темпи процесу дозрівання епітелію. Відставання темпів приросту висоти епітелію у експериментальних тварин може свідчити про схильність до розвитку захворювань [3,6].

Висновки. Внутрішньоутробне введення антигену призводить до сповільнення темпів дозрівання епітелію слизової оболонки носової частини глотки щурів, а також змінює темпи формування підслизової основи стінки носової частини глотки щурів. Зміни темпів приросту висоти одношарового однорядного війчастого епітелію більш

виражені у тварин, яким антиген антенатально введено в навколоплідні води у порівнянні з тваринами, яким антиген введено внутрішньоутробно. Одночасно встановлено, що відставання темпів приросту висоти одношарового багаторядного війчастого епітелію більш виражене у тварин, яким антиген введено внутрішньоутробно у порівнянні з тваринами другої експериментальної групи. Хвилеподібна зміна інтенсивності забарвлення ШІК-позитивних структур корелює з епізодами прискорення та сповільнення темпів морфогенезу органа.

Перспективи подальших досліджень. Надалі в роботі планується вивчити динаміку змін гліказаміногліканів, клітинного та лімфоцитарного складу носової частини глотки щурів, що дозволить описати реакцію лімфоїдної системи, асоційованої зі слизовою оболонкою носової частини глотки на внутрішньоутробне антигенне навантаження, а також зробити висновки про вираженість змін в залежності від способу введення антигена. Отримані дані дозволять скоректувати графік вакцинації дітей раннього віку.

Рецензент: д.мед.н., професор Науменко О.М.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Багрій М.М. Гістохімічні методи дослідження екстрацеллюлярного матриксу сполучної тканини / М.М. Багрій, М.В. Дем'янчук, І.В. Мельник [та ін.] // Вісник проблем біології та медицини. – 2011. – Т.1, вип. 2. – С. 248-251.
2. Волошин Н.А. Внутриутробная антигенная стимуляция как модель для изучения морфогенеза органов / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева, О.Г. Кущ [и др.] // Морфологические ведомости. – 2006. – №1-2, приложение №1. – С. 57-59.
3. Ковбасенко А.Л. Гистохимическая характеристика структурных элементов двенадцатиперстной кишки новорожденных крыс в раннем постнатальном периоде в норме и после внутриутробного введения антигена / А.Л. Ковбасенко // Теоретические и практические аспекты медицины : матер. 78 научно-практич. конф. студентов и молодых ученых (Симферополь, 20 апреля 2006г.). – Симферополь: Крымск. государств. мед. ун-т им. С.И. Георгиевского, 2006. – С. 90-91.
4. Ковбасенко А.Л. Морфометрическая характеристика структурных элементов двенадцатиперстной кишки новорожденных Крым в раннем постнатальном периоде в норме и после внутриутробного введения антигена / А.Л. Ковбасенко // матер. третьої Всеукраїнської морфологічної наукової конференції [Карповські читання] (Дніпропетровськ, 11-14 квітня 2006р.). – Дніпропетровськ: Пороги, 2006. – С. 33-34.
5. Лобода В.Ф. Морфометричні зміни у слизовій оболонці шлунка та дванадцятапалої кишки у дітей, хворих на хронічний гастро дуоденіт, асоційований з Helicobacter pylori / В.Ф. Лобода, М.С. Гнатюк, Ю.І. Бутницький // Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. – 2008. – №2. – С. 48-51.
6. Марчук Ф.Д. Формування фізіологічної атрезії в поєднанні з розвитком епітелію стравоходу / Ф.Д. Марчук, Ю.Т. Ахтемійчук, Б.Г. Макар [та ін.] // Морфологія. – 2009. – Т. III, №3. – С. 75-78.

7. Милицький В.Ф. Патогенетичні основи внутрішньоутробних інфекцій / В.Ф. Милицький, С.С. Ткачук, О.В. Ткачук [та ін.] // Клінічна та експериментальна патологія. – 2011. – Т.Х, №2 (36), ч.1. – С. 137-141.
8. Моїсеєнко Р.О. Частота і структура захворюваності дітей в Україні та шляхи її зниження / Р.О. Моїсеєнко // Перинатологія і педіатрія. – 2009. – № 4(40). – С.23-26.
9. Харченко С.В. Закономерности изменения углеводного обмена в нормальном эмбриогенезе легких и почек крыс / С.В. Харченко, Е.Ю. Шаповалова, О.А. Дорохова // Медицина сьогодні і завтра. – 2009. – №2. – С. 4-7.

**ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ СТЕНКИ
НОСОГЛОТКИ КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ
ПЕРИОДЕ В НОРМЕ И ПОСЛЕ
ВНУТРИУТРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИГЕНА**

Матвеевшина Т.Н.

Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина

Резюме. Частые эпидемии гриппа обусловили проведение вакцинации среди беременных женщин с целью профилактики пандемического гриппа при условии наличия необходимого количества вакцины, поэтому вопрос исследования морфологических изменений состояния иммунной системы плода в условиях повышенной антигенной вирусной нагрузки на организм матери остается подчеркнуто актуальным. Комплексное исследование морфометрических и гистохимических особенностей строения стенки носоглотки крыс выявило отставание темпов прироста высоты эпителия у антигенпримированных животных, что может свидетельствовать о наличии склонности к развитию заболеваний.

Ключевые слова: поверхностный эпителиоцит, вставочный эпителиоцит, базальный эпителиоцит, бокаловидная клетка, базальная мембрана, подслизистая основа, носоглотка.

**GISTOMORFOMETRICAL DESCRIPTION
OF STRUCTURAL ELEMENTS OF WALL OF RAT'S
NASAL PART OF PHARYNX IN POSTNATAL
PERIOD IN A NORM AND AFTER ANTEPARTAL
ANTIGEN ACTION**

Matveyshina T.M.

Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia,
Ukraine

Summary. The frequent epidemics of flu stipulated the leadthrough of vaccination among expectant mothers with the purpose of prophylaxis of pandemic flu on condition of presence of necessary amount of vaccine, therefore the question of research of morphological changes of the state of the immune system of child in the conditions of the enhanceable antigen viral loading on the mother's organism of remains underline actual. Complex research of morphometrical and histochemical features of structure of wall of rat's nasal part of the pharynx was exposed by lag of growth of height of epithelium rates at experimental animals, that can testify to the presence of propensity to development of diseases.

Keywords: superficial epithelial cell, intercalated epithelial cell, basal epithelium, goblet cell, basal membrane, submucosal layer, nasal part of pharynx