

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ PNA⁺ - ЛИМФОЦИТОВ В СТЕНКЕ
ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС В РАННЕМ
ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ И ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО ВВЕДЕНИЯ
АНТИГЕНА****Запорожский государственный медицинский университет (г. Запорожье)**

Работа является фрагментом комплексной плановой научно-исследовательской работы кафедры нормальной анатомии, оперативной хирургии и топографической анатомии, гистологии, цитологии и эмбриологии Запорожского государственного медицинского университета «Особливості мофогенезу органів лімфоїдної системи плодів та новонароджених після моделювання порушень в системі «МАТИ – ПЛАЦЕНТА – ПЛІД»» (№ государственной регистрации 0103 U 003927).

Вступление. Лимфоидные структуры, ассоциированные со слизистыми оболочками, принимают активное участие в формировании местного иммунитета пищеварительной системы [2]. Изучение лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками двенадцатиперстной кишки, позволит подойти к раскрытию механизмов формирования переваривания у новорожденного, а также более детальному изучению аллергического аспекта заболеваний кишечника у детей (кишечные инфекции, синдром мальабсорбции и др.), хронических заболеваний кишечника (хронический дуоденит, хроническая язва желудка и двенадцатиперстной кишки и др.) [4, 5]. Использование методов лектинового гистохимии позволяет специфически выявлять определённые типы клеток в тканевых срезах, не различимые при помощи стандартной гистохимической окраске. Специфическая гистотопография рецепторов к лектинам обуславливает различную локализацию и разнонаправленное развитие клеток. В ряде работ показана динамика развития двенадцатиперстной кишки. Однако распределение рецепторов к лектинам, в том числе и к лектину арахиса, в ранний постнатальный период в двенадцатиперстной кишке изучено недостаточно.

Целью исследования явилось изучение особенностей распределения рецепторов к лектину арахиса в оболочках двенадцатиперстной кишки крыс в норме и после внутриутробного введения антигена.

Объект и методы исследования. Объектом исследования служила двенадцатиперстная кишка белых крыс линии Вистар, на 1-е, 3-е, 7-е, 11-е, 14-е, 21-е, 30-е, 45-е и 60-е сутки постнатальной жизни. Возрастные группы установлены расчетным путем, (Г. А. Добровольский, 1984г.). Крысы содержались в виварии в соответствии с рекомендациями Ю.Н. Кожемякин и др. В работе исследованы 3-и группы животных: первая группа – интактные крысы, вторая группа – крысы, которым вводили физиологический

раствор NaCl, в те же сроки, что и экспериментальным животным, третья группа – экспериментальные животные, которым внутриутробно вводился человеческий иммуноглобулин. Внутриплодное введение антигена осуществлялось плодам на 18-е сутки внутриутробного развития, оперативным путем (Волошин Н.А., 1981г.). Забой животных проводили путем декапитации. Для исследования проводился забор двенадцатиперстной кишки, которую делили на проксимальный и дистальный отделы. Границей между данными отделами считали линию, разделяющую нисходящую и восходящую части двенадцатиперстной кишки соответственно. Кусочки кишки фиксировались в жидкости Буена, проводились в возрастающей концентрации спиртов и заливались в воск-каучук-парафин. Готовились серийные срезы, толщиной 5-6 мкм. Для выявления лимфоцитов, фенотипически различных; по углеводным остаткам проводили исследования с применением лектинов арахиса (PNA⁺) с использованием стандартных наборов "Лектины". Обработку срезов производили конъюгатом лектин арахиса - пероксидаза хрена (PNA-HRP). Для проявления использовали раствор 3,3-диметилбензидина. Учет результатов реакции с конъюгатами лектина арахиса PNA⁺ производили полуколичественно при иммерсионном увеличении микроскопа (об.90, ок.10): ++ - темно-коричневая окраска (положительная реакция), + - светло-коричневая окраска (слабо положительная реакция), 0 – отсутствие реакции. Подсчитывали абсолютное количество PNA⁺ - лимфоцитов на площадь 15000 мкм².

Содержание животных и эксперименты проводились согласно положений «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Результаты исследований и их обсуждение. У новорожденных интактных крыс в двенадцатиперстной кишке внутриэпителиальные PNA⁺ - лимфоциты в своем большинстве представлены малыми лимфоцитами, округлой формы до 6мкм в диаметре. Они расположены в основном у основания крипты и в подслизистой основе.

На первые сутки после рождения у интактных крыс количество PNA⁺ - лимфоцитов в составе ворсинки составляет 1,32±0,13 клеток на 15000 мкм² в

МОРФОЛОГИЯ

проксимальном отделе двенадцатиперстной кишки и $1,71 \pm 0,11$ в дистальном, что значительно меньше, чем в составе крипты и в подслизистой основе, где содержание этих клеток составляет $2,52 \pm 0,16$ на уровне крипты и $2,31 \pm 0,11$ в подслизистой основе проксимального отдела, и $2,84 \pm 0,14$ и $2,52 \pm 0,13$ на единицу площади соответственно в дистальном отделе. У антигенпремированных животных их содержание немного больше и составляет $2,2 \pm 0,1$ и $2,81 \pm 0,15$ в проксимальном и дистальном отделах двенадцатиперстной кишки соответственно на уровне ворсинки, $4,86 \pm 0,15$ и $3,93 \pm 0,17$ на уровне крипты и $4,15 \pm 0,19$ и $3,25 \pm 0,11$ на единицу площади в подслизистой основе. В контрольной группе крыс содержание PNA⁺ - лимфоцитов в исследуемых структурах двенадцатиперстной кишки достоверно не отличается от интактной группы, поэтому далее в тексте будут приводиться данные только интактной и экспериментальной групп.

С третьих по седьмые сутки жизни наблюдается снижение количества иммунологически незрелых лимфоцитов во всех исследуемых структурах трех групп животных как в проксимальном, так и в дистальном отделах двенадцатиперстной кишки (табл.).

На одиннадцатые сутки жизни и до двухмесячного возраста у интактных животных наблюдается волнообразная динамика содержания PNA⁺ - лимфоцитов в структурах проксимального и дистального отделов двенадцатиперстной кишки. В экспериментальной группе крыс с седьмых по четырнадцатые сутки можно отметить достоверное увеличение количества иммунологически незрелых лимфоцитов по сравнению с интактной и контрольной группами, после чего с двадцать первых суток жизни разница в данных показателях нивелируется во всех исследуемых структурах как проксимального, так и дистального отделов двенадцатиперстной кишки (табл.).

Таблица

Абсолютное количество PNA⁺ - лимфоцитов в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки (на ед. площади 15000 мкм²)

Сутки	Группа	Проксимальный отдел			Дистальный отдел		
		Ворсинка	Крипта	Подслизистая основа	Ворсинка	Крипта	Подслизистая основа
1	N	$1,32 \pm 0,13$	$2,52 \pm 0,16$	$2,31 \pm 0,11$	$1,71 \pm 0,11$	$2,84 \pm 0,14$	$2,52 \pm 0,13$
	F	$1,15 \pm 0,17$	$2,85 \pm 0,13$	$2,57 \pm 0,1$	$1,56 \pm 0,12$	$2,77 \pm 0,12$	$2,26 \pm 0,15$
	γ	$2,2 \pm 0,1^{**}$	$4,86 \pm 0,15^{**}$	$4,15 \pm 0,19^{**}$	$2,81 \pm 0,15^{**}$	$3,93 \pm 0,17^{**}$	$3,25 \pm 0,11^{**}$
3	N	$1,27 \pm 0,16$	$2,4 \pm 0,26$	$2,22 \pm 0,14$	$1,57 \pm 0,1$	$2,5 \pm 0,15$	$2,24 \pm 0,21$
	F	$0,55 \pm 0,14$	$2,15 \pm 0,24$	$1,75 \pm 0,15$	$1,33 \pm 0,22$	$2,64 \pm 0,13$	$2,31 \pm 0,12$
	γ	$1,5 \pm 0,12$	$3,52 \pm 0,19^{**}$	$3,55 \pm 0,16^{**}$	$2,18 \pm 0,13^{**}$	$3,73 \pm 0,28^{**}$	$3,61 \pm 0,11^{**}$
7	N	$0,85 \pm 0,19$	$2,36 \pm 0,18$	$2,14 \pm 0,1$	$1,14 \pm 0,16$	$3,36 \pm 0,25^*$	$2,74 \pm 0,14$
	F	$1,1 \pm 0,26$	$2,19 \pm 0,11$	$2,21 \pm 0,17$	$1,31 \pm 0,17$	$3,17 \pm 0,19$	$2,52 \pm 0,33$
	γ	$1,65 \pm 0,11^{**}$	$4,17 \pm 0,12^{**}$	$4,18 \pm 0,23^{**}$	$1,69 \pm 0,16$	$4,31 \pm 0,15^{**}$	$4,29 \pm 0,15^{**}$
11	N	$1,1 \pm 0,15$	$2,78 \pm 0,13$	$2,7 \pm 0,2^*$	$1,45 \pm 0,21$	$3,16 \pm 0,13$	$2,65 \pm 1,24$
	F	$0,99 \pm 0,2$	$2,93 \pm 0,36$	$2,55 \pm 1,17$	$1,85 \pm 0,11$	$3,22 \pm 0,15$	$2,38 \pm 0,19$
	γ	$1,3 \pm 0,19$	$4,23 \pm 0,15^{**}$	$3,26 \pm 0,24^{**}$	$2,19 \pm 0,14^{**}$	$4,37 \pm 0,31^{**}$	$3,87 \pm 0,22^{**}$
14	N	$0,9 \pm 0,15$	$2,53 \pm 0,17$	$2,45 \pm 0,12$	$1,68 \pm 0,16$	$3,84 \pm 0,22^*$	$3,31 \pm 0,14^*$
	F	$1,13 \pm 1,16$	$2,16 \pm 0,13$	$2,12 \pm 0,27$	$1,7 \pm 0,33$	$3,56 \pm 0,23$	$3,82 \pm 0,16$
	γ	$1,06 \pm 0,12$	$3,41 \pm 0,11^{**}$	$3,15 \pm 1,15^{**}$	$1,71 \pm 0,15$	$4,66 \pm 1,26^{**}$	$4,31 \pm 0,11^{**}$
21	N	$1,54 \pm 0,1^*$	$2,32 \pm 0,28$	$3,2 \pm 0,16^*$	$1,97 \pm 0,17$	$2,73 \pm 0,14^*$	$3,79 \pm 1,15^*$
	F	$1,62 \pm 0,17$	$2,16 \pm 0,14$	$3,34 \pm 0,13$	$1,62 \pm 0,19$	$2,61 \pm 0,22$	$3,38 \pm 0,14$
	γ	$1,6 \pm 0,18$	$2,6 \pm 0,16$	$3,42 \pm 0,19$	$1,81 \pm 1,11$	$3,3 \pm 0,11$	$3,68 \pm 0,26$
30	N	$1,81 \pm 0,13$	$2,43 \pm 0,2$	$3,38 \pm 0,38$	$1,3 \pm 0,12$	$3,62 \pm 0,14$	$3,93 \pm 0,28$
	F	$1,54 \pm 0,15$	$2,72 \pm 0,19$	$3,63 \pm 0,17$	$1,61 \pm 0,24$	$3,93 \pm 0,125$	$3,81 \pm 0,13$
	γ	$1,24 \pm 0,11$	$2,15 \pm 0,18$	$3,6 \pm 1,16$	$1,74 \pm 0,16$	$3,32 \pm 1,18$	$3,55 \pm 0,16$
45	N	$1,3 \pm 0,11$	$2,18 \pm 0,1$	$3,52 \pm 0,39$	$1,78 \pm 0,17$	$3,88 \pm 0,12$	$2,27 \pm 0,13$
	F	$1,24 \pm 0,12$	$2,26 \pm 0,14$	$3,33 \pm 0,14$	$1,55 \pm 0,15$	$3,67 \pm 0,13$	$2,4 \pm 0,15$
	γ	$1,8 \pm 0,11$	$2,33 \pm 0,12$	$3,71 \pm 0,15$	$1,41 \pm 0,13$	$3,51 \pm 0,16$	$2,71 \pm 0,19$
60	N	$1,15 \pm 0,15$	$2,91 \pm 0,12$	$2,26 \pm 0,17$	$1,9 \pm 0,15$	$2,68 \pm 0,11$	$2,25 \pm 0,26$
	F	$1,21 \pm 0,17$	$2,72 \pm 0,16$	$2,3 \pm 0,22$	$1,85 \pm 0,18$	$2,82 \pm 0,15$	$2,28 \pm 0,21$
	γ	$1,3 \pm 0,12$	$2,19 \pm 0,15$	$2,51 \pm 0,1$	$1,17 \pm 0,12$	$2,9 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,12$

Примечание. 1. N – интактная группа, F – контрольная группа, γ – экспериментальная группа;

2. * - результат достоверный относительно предыдущего срока, ** - результат достоверный относительно интактной группы

Таким образом, учитывая, что лектин арахиса подземного относится к группе D – галактозоспецифических лектинов, подгруппе T- специфических

лектинов, селективно связывается с углеводными остатками α-D-GalpNAc-(1-3)-D-GalNAc, можно отметить, что в проксимальном и дистальном отделах

двенадцатиперстной кишки наибольшее количество рецепторов к лектину арахиса наблюдается в серозной оболочке – в базальной мембране эндотелиальных клеток, в подслизистой основе – в эритроцитах, расположенных в сосудах и в слизистой оболочке – в гибнущих клетках на верхушках ворсинок, исчерченной каемке эпителиоцитов. PNA⁺ - лимфоциты встречаются в эпителии слизистой, а также в подслизистой основе. Эти клетки округлой формы со светло-коричневой мелкозернистой цитоплазмой, вдоль границы

которой можно выделить отложения зернистого пигмента коричневого цвета.

У животных внутриутробно подвергавшихся антигенному воздействию отмечается увеличение количества PNA⁺ - лимфоцитов в слизистой оболочке и подслизистой основе двенадцатиперстной кишки по сравнению с интактной и контрольной группами, что согласуется с данными ранее полученными в слизистой оболочке подвздошной и восходящей ободочной кишок, а также паренхиме почек [4, 6]. Увеличение количества лимфоцитов у новорожденных крыс является закономерной реакцией разных отделов тонкой кишки на введение антигенов различной природы плодам. Увеличение количества лимфоцитов в слизистой оболочке и подслизистой основе можно объяснить, исходя из концепции «лимфоцит – фактор морфогенеза» [1]. Гаммаглобулин является специфическим раздражителем для лимфоидной системы, и на его введение наблюдается увеличение содержания лимфоцитов

в слизистых оболочках различных органов, которые оказывают морфогенетическое влияние, что представлено в выше приведенных работах [4, 6]. В более ранних работах, при исследовании стенки двенадцатиперстной кишки было выявлено, что при введении иммуноглобулина во внутриутробном периоде, у крыс в двенадцатиперстной кишке наблюдается увеличение толщины слизистой и серозной оболочек и уменьшение толщины мышечной оболочки. Эти изменения наблюдаются на фоне увеличения содержания PNA⁺ - лимфоцитов, которые оказывают морфогенетическое влияние на становление оболочек кишки.

Выводы.

1. После внутриутробного введения антигена у новорожденных животных наблюдается достоверное увеличение PNA⁺ - лимфоцитов в проксимальном и дистальном отделах двенадцатиперстной кишки, по сравнению с интактными.

2. В группе крыс, которым вводили гаммаглобулин, наблюдается большее, чем в норме содержание PNA⁺ - лимфоцитов в исследуемых структурах проксимального и дистального отделов двенадцатиперстной кишки.

Перспективы дальнейших исследований. В дальнейшем планируется изучить гликопротеиновый состав двенадцатиперстной кишки и выявить зависимость между количеством лимфоцитов и количественными, а также качественными изменениями в стенке двенадцатиперстной кишки.

Список литературы

1. Волошин Н.А. Внутриутробная антигенная стимуляция - фактор морфогенеза органов иммунной системы / Н.А.Волошин, М.В.Карзов, О.А.Новоселова [и др.] // Морфология. - 1996. - Т. 105. - № 9-10. - С. 60.
2. Игнатъева Г.А. Современные представления об иммунитете (контуры общей теории) / Г.А. Игнатъева // Патол. физиология и эксперим. Терапия. - 2003. - 2. - С. 2-7.
3. Нестерова И.В. Особенности строения и функционирования иммунной системы желудочно-кишечного тракта / И.В. Нестерова, И.Н. Швыдченко // Аллергология и иммунология. - 2002. - Т. 3, № 2. - С. 282 - 292.
4. Светлицкий А.А. Морфологические изменения стенки тонкой кишки крыс в постнатальном периоде, после внутриутробного введения антигена / А.А. Светлицкий, Н.А. Волошин // Запорожский медицинский журнал. - 2006. – Том 1, № 5(38). - С. 10
5. Хаитов Р. М. Новые данные о строении и функционировании иммунной системы желудочно-кишечного тракта / Р. М.Хаитов, Б.В. Пинегин // Анналы хирургической гепатологии. - 2002.- Т. 7, № 2.- С.105 – 110.; // Анналы хирургической гепатологии. - 2003.- Т. 8, № 1.- С.112 – 117.
6. Чугин С.В. Распределение рецепторов к лектину арахиса (PNA) в почках новорожденных крыс в норме и после внутриутробного введения антигена / С.В. Чугин // Сборник материалов Научно-практической конференции. - Тернополь, 2008. – С. 102-104.

УДК 611.342.018:616-031.25-097]:616-092.9

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ PNA⁺ - ЛИМФОЦИТОВ В СТЕНКЕ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ И ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО ВВЕДЕНИЯ АНТИГЕНА

Лазарик А.Л., Светлицкий А.А.

Резюме. В статье изучено распределение рецепторов к лектину арахиса в структурах двенадцатиперстной кишки белых крыс линии Вистар от первых до шестидесятих суток после рождения. Показана возрастная динамика увеличения PNA⁺ - лимфоцитов в слизистой оболочке и подслизистой основе проксимального и дистального отделов двенадцатиперстной кишки. Выявлены изменения динамики состава PNA⁺ - лимфоцитов в двенадцатиперстной кишке после введения крысам антигена во внутриутробном периоде.

Ключевые слова: двенадцатиперстная кишка, PNA⁺ - лимфоциты, новорожденные крысы, гаммаглобулин.

УДК 611.342.018:616-031.25-097]:616-092.9

РОЗПОДІЛ PNA + - ЛІМФОЦИТІВ В СТІНЦІ ДВАНДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ НОВОНАРОДЖЕНИХ ЩУРІВ В РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ І ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО ВВЕДЕННЯ АНТИГЕНУ

Лазарик А.Л., Світлицький А.О.

Резюме. У статті вивчено розподіл рецепторів до лектини арахісу в структурах дванадцятипалої кишки білих щурів лінії Вістар від перших до шістдесятих діб після народження. Показана вікова динаміка збільшення PNA + - лімфоцитів у слизовій оболонці і підслизовій основі проксимального і дистального відділів дванадцятипалої кишки. Виявлено зміни динаміки складу PNA + - лімфоцитів в дванадцятипалої кишці після введення щурам антигену у внутрішньоутробному періоді.

Ключові слова: дванадцятипала кишка, PNA + - лімфоцити, новонароджені щури, гаммаглобулін.

UDC 611.342.018:616-031.25-097]:616-092.9

The Distribution Of PNA + - Lymphocytes In The Duodenal Wall Of Newborn Rats In Early Postnatal Ontogenesis And After Intrauterine Injection Of Antigen

Lazarik A.L., Svetlitsky A.A.

Summary. This article studied the distribution of receptors for the lectin peanut in the structures of the duodenum of white Wistar rats from the first to sixty days after birth. Shows the increase in the age dynamics of PNA + - lymphocytes in the mucosa and submucosa through the proximal and distal duodenum. The changes the dynamics of the PNA + - lymphocytes in the duodenum after administration of antigen to rats in utero.

Key words: duodenum, PNA + - cells, newborn rat gamma globulin.

Стаття надійшла 1.08.2011 р.