

УДК 611.34:577.112.85]:599.323.4

О.Л. Лазарик, О.А. Григор'єва*Кафедра анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії (зав. – проф. М.А. Волошин) Запорізький державний медичний університет*

ЛЕКТИНГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАКТИВНОСТІ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ЩУРІВ У ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. Робота присвячена вивченню особливостей дванадцятипалої кишки новонароджених щурів у ранньому післянатальному періоді в нормі та після дії антигену. Показано, що введення антигену призводить до збільшення вмісту PNA⁺-лімфоцитів в епітелії слизової та підслизової основи структур дванадцятипалої кишки. Їх кількість у експериментальних тварин достовірно збільшується на 1-3-у добу після народження, після чого поступово зменшується до 14-ї доби життя. Після 14-ї доби життя спостерігаються поодинокі PNA⁺-лімфоцити. Також вивчена динаміка SBA⁺-лімфоцитів у дванадцятипалій кишці. Їх кількість відносно стабільна на першу добу після народження, та після 14-ї доби життя зростає в 1,5-2 рази і досягає максимуму на 30-ту добу життя.

Ключові слова: дванадцятипала кишка, реактивність, лектини, антиген стимуляція.

Лімфоїдні структури, асоційовані зі слизовими оболонками, беруть активну участь у формуванні місцевого імунітету системи травлення [1]. Вивчення лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизовою оболонкою дванадцятипалої кишки, дозволить підійти до розкриття механізмів формування травлення у новонародженого, а також сприятиме більш детальному вивченню алергічного аспекту захворювань кишки у дітей (кишкові інфекції, синдром мальабсорбції та ін.), хронічних кишкових захворювань (хронічний дуоденіт, хронічна виразка шлунку та дванадцятипалої кишки та ін.) [1, 2]. Використання методів лектинової гістохімії сприяє специфічному виявленню певних типів клітин у тканинних зрізах, які не визначаються за допомогою стандартного гістохімічного забарвлення [3]. Специфічна гістотопографія рецепторів до лектинів обумовлює різноманітну локалізацію та різноспрямований розвиток клітин. У ряді робіт відображена динаміка розвитку дванадцятипалої кишки. Натомість розподіл рецепторів до лектинів у ранньому післянатальному періоді в дванадцятипалій кишці вивчено недостатньо [3, 4].

Мета дослідження: вивчення особливостей розподілу рецепторів до лектину арахісу та сої в оболонках дванадцятипалої кишки щурів у нормі та після внутрішньооплодового введення антигену.

Матеріал і методи. Об'єктом дослідження була дванадцятипала кишка білих щурів лінії Вістар, на 1-у, 3-ю, 7-у, 11-у, 14-у, 21-у, 30-у, 45-у та 60-у добу післянатального життя. Вікові групи

встановлені розрахунковим шляхом. Щурів помістили у віварій відповідно до рекомендацій Ю.М. Кожемякіна та ін. [5]. У роботі досліджені 3-и групи тварин: перша група – інтактні щури, друга група – щури, яким вводили фізіологічний розчин NaCl у ті ж терміни, що й експериментальним тваринам, третя група – експериментальні тварини, яким внутрішньооплодово вводили імуноглобулін людини. Внутрішньооплодове введення антигену здійснювалось плодам на 18-у добу внутрішньоутробного розвитку, оперативним шляхом [6]. Забій тварин проводили шляхом декапітації. Для дослідження проводився забір дванадцятипалої кишки, яку розділяли на проксимальний та дистальний відділи. Межею між цими відділами вважали лінію між висхідною та висхідною частинами дванадцятипалої кишки. Шматочки кишки фіксували в рідині Буена, проводились у висхідній концентрації спиртів та заливалися у воск-каучук-парафін. Готувалися серійні зрізи завтовшки 5-6 мкм. Для виявлення лімфоцитів, які фенотипово відрізняються за вуглеводними залишками, проводили дослідження із застосуванням лектинів: арахісу підземного (PNA⁺), що належать до групи D-галактозоспецифічних лектинів та селективно зв'язується з вуглеводними залишками α-D-GalpNAc-(1-3)-D-GalNAc та сої культурної (SBA⁺), що проявляє найбільшу афінність до N-ацетил-D-галактозаміну. Реакцію проводили з використанням стандартних наборів "Лектин-

© Лазарик О.Л., Григор'єва О.А., 2016

тест" (м. Львів) [4]. Обробку зрізів здійснювали за допомогою кон'югата лектину арахісу – пероксидази хрому (PNA-HRP) та кон'югата лектину сої – пероксидази хрому протягом 45 хвилин за температури $+37^{\circ}\text{C}$ у темряві після попередньої інактивації ендогенної пероксидази. Для проявлення використовували розчин 3,3-диметилбензидину. Облік результатів реакції з кон'югатами лектину арахісу PNA⁺ та лектину сої SBA⁺ проводили напівкількісно при імерсійному збільшенні мікроскопа (об.90, ок.10): + – темно-коричневе забарвлення (позитивна реакція), + – світло-коричневе забарвлення (слабка позитивна реакція), 0 – відсутність реакції. Усі результати досліджень оброблялися методами варіаційної статистики. Відмінності двох середніх величин вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

У проксимальному та дистальному відділах дванадцятипалої кишки найбільша кількість рецепторів до лектину арахісу спостерігається на базальній мембрані серозної оболонки, ендотеліальних клітинах, еритроцитах, розташованих у судинах підслизової основи, клітинах, які гинуть на верхівках ворсинок, посмугованій облямівці епітеліальних клітин слизової оболонки. PNA⁺ – лімфоцити трапляються в епітеліальному шарі слизової оболонки, а також у підслизовій основі. Ці клітини кулястої форми зі світло-коричневою дрібнозернистою цитоплазмою, впродовж межі якої можна виявити відкладення зернистого пігменту коричневого кольору.

Під час проведення реакції з лектином арахісу лімфоцити розподіляються на PNA⁺ та PNA⁻ популяції. Відомо, що PNA⁺ – лімфоцити є імунологічно незрілими та здатними до морфогенетичного впливу на прилеглі тканини [8]. Також PNA⁺ – лімфоцити можуть становити $\gamma\delta$ -цитотоксичну субпопуляцію лімфоцитів, основною функцією яких є утримання контролю за процесами проліферації та диференціювання клітинного пулу [8, 9]. PNA⁺ – лімфоцити виявляються в обох відділах дванадцятипалої кишки та своєю більшістю представлені малими лімфоцитами. Їх кількість є максимальною у першу добу після народження, після чого прогресивно зменшується протягом наступних двох тижнів, що, найімовірніше, пов'язано з дозріванням лімфоцитів. Через 14 діб післянатального життя можна виявити лише поодинокі PNA⁺ – лімфоцити, які, швидше за все, і є

$\gamma\delta$ -цитотоксичною субпопуляцією лімфоцитів. Після введення антигену спостерігається збільшення вмісту PNA⁺ – лімфоцитів у 1,5-2 рази, у порівнянні з інтактними тваринами, як в епітеліальному шарі слизової, так і в підслизовій основі проксимального та дистального відділів дванадцятипалої кишки. Кількість PNA⁺ – лімфоцитів у дванадцятипалій кишці експериментальних тварин залишається збільшеною відносно інших груп до 11-ї доби після народження. До 14-ї доби кількість PNA⁺ – лімфоцитів у всіх досліджуваних групах зменшується вдвічі та стає практично однаковою як у проксимальному, так і в дистальному відділах дванадцятипалої кишки.

Лектин сої культурної належить до групи лектинів, які зв'язуються з F-антигеном (антигеном Форсмана), та абсолютної селективності до цього антигену не виявляє і також реагує з іншими вуглеводами групи D-галактози [3]. Відомо, що лектин демонструє найбільшу афінність до N-ацетил-D-галактозаміну [4]. При постановці реакції з лектином сої (SBA) можна виявити відкладення бензидину на 15-20 % лімфоцитів як у проксимальному, так і в дистальному відділах дванадцятипалої кишки. Кількість SBA⁺-лімфоцитів, які можна зарахувати до популяції В-лімфоцитів, є відносно стабільною протягом перших двох тижнів після народження. Після чотирнадцятої доби спостерігається збільшення їх кількості у 1,5-2 рази, сягає максимуму на 30-ту добу та незначно зменшується до шістдесятої доби післянатального життя. Таку динаміку можна трактувати у зв'язку з антигенним навантаженням, яке збільшується у процесі переходу щурів на самостійне харчування [5, 9]. Також встановлено, що найбільшим змінам при введенні антигену підлягає склад PNA⁺-лімфоцитів, а кількість лімфоцитів з рецепторами до лектину сої суттєво не змінюється.

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. У популяції лімфоцитів дванадцятипалої кишки тварин усіх груп виявлені PNA⁺-лімфоцити та SBA⁺-лімфоцити. 2. Кількість PNA⁺-лімфоцитів у дванадцятипалій кишці експериментальних тварин залишається збільшеною відносно інших груп до 11-ї доби після народження. 3. Найбільшим змінам при введенні антигену підлягає склад PNA⁺-лімфоцитів, а кількість лімфоцитів з рецепторами до лектину сої суттєво не змінюється.

Список використаної літератури

1. Хаитов Р.М. Иммуная система желудочно-кишечного тракта: особенности функционирования в норме и при патологии / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 1997. – № 5. – С. 4-7.
2. Нестерова И.В. Особенности строения и функционирования иммунной системы желудочно-кишечного тра-

кта / И.В. Нестерова, И.Н. Швыдченко // Аллергология и иммунология. – 2002. – Т. 3, № 2. – С. 282-292. 3. Бернік Н.В. Морфологія людини і лектингістохімія / Н.В. Бернік, І.Ю. Олійник, Л.П. Лаврів // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. 9, № 3 (33). – С. 138-143. 4. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела / В.О. Антонюк. – Львів: ПП «Кварт», 2005. – 554 с. 5. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожемякін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова – К.: Авіценна. – 2002. – 156 с. 6. Волошин М.А. Внутритрубная антигенная стимуляция как модель для изучения морфогенеза органов / М.А. Волошин, Е.А. Григорьева, М.С. Щербаков // Морфологические ведомости. – Уфа, 2006. – № 1-2, прил. № 1. – С. 57-59. 7. Ройт А. Основы иммунологии: пер. с англ. / А. Ройт. – Мир, 1991. – 287 с. 8. Петров Р.В. Иммунология / Р.В. Петров. – М.: Медицина, 1982. – 368 с. 9. Туманов А.В. Развитие вторичных лимфоидных органов / А.В. Туманов // Иммунология. – 2004. – № 2. – С. 120-128.

ЛЕКТИНГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАКТИВНОСТИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. Работа посвящена изучению особенностей двенадцатиперстной кишки новорожденных крыс в раннем постнатальном периоде в норме и после действия антигена.

Показано, что введение антигена приводит к увеличению содержания PNA+-лимфоцитов в эпителии слизистой и подслизистой основы структур двенадцатиперстной кишки. Их количество у экспериментальных животных достоверно увеличивается в 1-3-и сутки после рождения, после чего постепенно уменьшается до 14-х суток жизни. После 14-и суток жизни наблюдаются единичные PNA+-лимфоциты. Также изучена динамика SBA+-лимфоцитов в двенадцатиперстной кишке. Их количество относительно стабильно в первые сутки после рождения, после 14-х суток жизни возрастает в 1,5-2 раза и достигает максимума на 30-е сутки жизни.

Ключевые слова: двенадцатиперстная кишка, реактивность, лектины, антигенстимуляция.

LECTIN-HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF DUODENAL REACTIVITY OF RATS IN THE EXPERIMENT

Abstract. The work examines the characteristics of neonatal rat duodenum in early postnatal period in the norm and after the action of antigens.

Administration of antigen is indicated to lead to an increase in the content of PNA+-lymphocytes in the epithelium of the mucosa and submucosa structures of the duodenum. Their number in experimental animals increases significantly in 1-3 days after birth and then gradually decreases to 14th day of life. After the 14th day of life single PNA+-lymphocytes are found. The dynamics of SBA+-lymphocytes in the duodenum is also examined. Their number is relatively stable in the first day after birth, but after the 14th day of life increased by 1,5-2 times, reaching maximum on the 30th day of life.

Key words: duodenum, reactivity, lectins, stimulation of antigen.

Zaporozhye State Medical University (Zaporozhye)

Надійшла 01.02.2016 р.

Рецензент – проф. Олійник І.Ю. (Чернівці)