ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА І МОРФОЛОГІЯ

DOI: 10.26693/jmbs02.06.007
УДК 616.36-002-009-06:612

Головатюк Л. М., Бондаренко Т. Є., Кратко О. В.

ТОКСИЧНИЙ ГЕПАТИТ ЯК ФАКТОР ЗМІН ЛОКАЛЬНИХ ІМУННИХ РЕАКЦІЙ В СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ТОВСТОЇ КИШКИ

Кременецька обласна гуманітарно-педагогічна академія ім. Тараса Шевченка, Кременець, Україна

luda888m@rambler.ru

Досліджували локальні імунні реакції товстої кишки при токсичному гепатиті. Виявили, що при змодельованому токсичному гепатиті істотно змінюються локальні імунні реакції у слизовій оболонці товстої кишки. Динаміка змін досліджуваних імуноморфологічних показників слизової оболонки товстої кишки свідчить, що ці імунні реакції напружені та нестабільні, тобто локальний імунний гомеостаз досліджуваного органа істотно порушується при змодельованій патології. При цьому знижується захисний бар'єр і виникає запальний процес в товстій кишці. Ступінь порушень співвідношень між плазматичними клітинами з основними класами імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) корелював з вираженістю структурної перебудови стінки товстої кишки при токсичному гепатиті, судинними розладами, дистрофічними, некробіотичними, інфільтративними процесами в ній.

Ключові слова: токсичний гепатит, товста кишка, локальні імунні реакції.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота є фрагментом НДР "Структурно-функціональні особливості тонкої та товстої кишок при поєднаних патологіях органів панкреатогепатобіліарної зони", № державної реєстрації 0105U002719.

Вступ. За даними Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я хвороби органів травлення є одними з найбільш поширених у світі, займають третє місце після захворювань серцево-судинної системи та онкологічних патологій [3, 7, 10]. Поширенню гастроентерологічних захворювань сприяють такі чинники: нераціональне харчування, забруднення довкілля, неконтрольоване вживання медикаментів, зростання наркоманії, алкоголізму, стреси, хімізація усіх сфер життєдіяльності людини [1, 2, 8, 9, 13]. На сьогоднішній день спостерігається зростання уражень товстої кишки. За розповсюдженістю пошкодження даного органа травної системи можна віднести до хвороб цивілізації. Причиною такого росту захворюваності є, в першу чергу, хімізація всіх галузей життєдіяльності людини, зокрема, широке використання не тільки в промисловості та сільському господарстві, а й в побуті хімічних речовин (особливо хлорованих вуглеводнів), що призводить до виникнення складних патологічних процесів в організмі та у товстій кишці зокрема. Серед вуглеводнів особливо небезпечним є тетрахлорметан. Це широко розповсюджена сполука, яка входить до складу миючих засобів, лаків, фарб, розчинників. Цей ксенобіотик потрапляє в організм людини переважно через дихальні шляхи та шлунково-кишковий тракт і спричиняє розвиток патологічних змін в різних органах та системах. Слід відмітити, що тісний анатомічний і функціональний зв'язок органів травлення обумовлюють розвиток поєднаних паталогій [5, 6,14].

На даний час не всі питання поєднаних патологій органів травної системи достатньо вивчені, що привертає до себе увагу вчених. Розвиток запальних змін в кишках супроводжується імунними порушеннями, які обумовлюють хронізацію і прогресування захворювання.

Метою даної **роботи** було дослідження локальних імунних реакцій в слизовій оболонці товстої кишки при токсичному гепатиті.

Об'єкт і методи дослідження. В експерименті використано 40 статевозрілих щурів-самців, які були розділенні на 4 групи: 1-у групу складали 10 здорових тварин, 2-у – 10 щурів з токсичним гепатитом, який спостерігали 2 доби, 3-ю – 10 щурів з токсичним гепатитом який спостерігали 7 діб, 4-у – 10 тварин с токсичним гепатитом який спостерігали 14 діб. Токсичний гепатит моделювали внутрішньо шлунковим введенням чотирихлористого вуглецю. Евтаназія дослідних тварин здійснювалася кровопусканням в умовах тіопенталнатрієвого наркозу. Вирізали шматочки товстої кишки, які фіксували 10% нейтральним розчином формаліну і після проведення через етилові спирти зростаючої концентрації поміщали в парафін. Мікротомні зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином, за ван-Гізон, Маллорі, Вейгертом. Для визначення плазматичних клітин з Ig A, M, G, E мікротомні зрізи товстої кишки обробляли моноспецифічними сироватками проти вказаних класів імуноглобулінів, кон'югованих з ізотіоціанатом флюоресцеїну, застосовуючи прямий метод Кунса з відповідними контролями [4, 7, 8]. Зрізи досліджувалися за допомогою люмінісцентного мікроскопу «Люмам Р-8». У люмінісцентному світлі підраховували плазматичні клітини, які давали специфічне світіння на 1 мм слизової оболонки досліджуваного органа. Визначення секреторного Ig A (sIg A) у слизовій оболонці проводилося методом радіальної імунодифузії за допомогою специфічної сироватки проти sIg A [7, 9].

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П`ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Отримані результати обробляли статистично. Різницю між порівнюваними морфометричними параметрами визначали за критерієм Стюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Досліджено локальні імунні реакції у слизовій оболонці товстої кишки при змодельованому токсичному гепатиті. Отримані при цьому дослідженні показники представлені в **табл.**

Дослідження локальних імунних реакцій у непошкодженій товстій кишці показало, що у слизовій оболонці даного органа зустрічаються плазматичні клітини з основними класами імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) а також плазмоцити з Ig E. Встановлено, що при цьому кількість плазматичних клітин з Ig A виявилася найбільшою, дещо менше цих клітин відмічалося з Ig M, ще менше з Ig G. Плазмоцитів з Ig E у слизовій оболонці неураженої товстої кишки було найменше. У гомогенатах слизової оболонки досліджуваного органа спостерігалася помірна кількість секреторного Ig A.

Проведеними імуноморфологічними дослідженнями встановлено, що вже на 2-у добу змодельованого токсичного гепатиту локальні імунні реакції у слизовій оболонці товстої кишки суттєво змінювалися. При цьому число плазматичних клітин з Ig A зросло майже на 10,0%, кількість клітин з Ig M – на 20,3%, з Ig G – на 15,0%, а з Ig E – на 18,5%. Рівень sIg A у даних умовах експерименту збільшився на 9,7%.

Проведеними дослідженнями встановлено, що локальні імунні реакції у слизовій оболонці товстої кишки при змодельованому токсичному гепатиті у більшому ступені виявилися змінені на 7-у добу досліду. В даних експериментальних умовах число плазматичних клітин з Ig A у слизовій оболонці товстої кишки зросло з 310,4±9,3 до 389,5±9,9, тобто на 25,5%. Наведені цифрові дані також статистично достовірно ($p<0,01$) відрізнялися між собою. На 7-у добу токсичного гепатиту кількість плазмоцитів з Ig M у слизовій оболонці товстої кишки збільшилася з 187,3±4,8 до 338,20±9,3. Варто зазначити, що між наведеними показниками існувала суттєва різния ($p<0,001$). При цьому останній показник перевищував попередній у 1,8 рази.

Проведеним вивченням локальних імунних реакцій встановлено, що на 7-у добу досліду число плазматичних клітин з Ig G у слизовій оболонці

Таблиця – Локальні імунні реакції в слизовій оболонці товстої кишки експериментальних тварин (M±m)

Показник	Група спостереження			
	Контрольна	1 група (2 доба)	2 група (7 доба)	3 група (14 доба)
Плазматичні клітини з Ig A	310,4±9,3	341,4±9,6*	389,5±9,9**	305,3±8,7*
Плазматичні клітини з Ig M	187,3±4,8	225,3±5,4**	338,20±9,3***	290,4±7,5***
Плазматичні клітини з Ig G	75,8±1,8	87,2±1,8**	125,1±3,3***	110,5±2,7***
Плазматичні клітини з Ig E	28,60±0,69	33,90±0,81**	37,18±0,90	34,50±0,84**
Рівень секреторного імуноглобуліну А, г/л	0,720±0,018	0,790±0,018*	0,960±0,024***	0,810±0,021*

Примітки: * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$ – величини, що статистично достовірно відрізняються від контрольних.

досліджуваного органа досягло 125,1±3,3. Варто вказати, що дана цифрова величина перевищувала аналогічну контрольну у 1,7 рази і статистично достовірно (p<0,001) від неї (75,8±1,8) відрізнялася. Кількість плазматичних клітин з Ig E у слизовій оболонці товстої кишки на 7-у добу досліду дорівнювала 37,18±0,90. Встановлено, що даний показник, з високим ступенем достовірності (p<0,001), перевищував такий самий контрольний (28,60±0,69) у 1,3 рази.

Рівень секреторного імуноглобуліну у слизовій оболонці товстої кишки на 7-у добу досліду виявився збільшеним на 33,3%. При визначенні різниці між наведеними цифровими величинами встановлено, що коефіцієнт Стьюдента при цьому дорівнював 8,0, що вказувало на суттєву різницю між наведеними (p<0,001) показниками. Встановлені та проаналізовані імуноморфо-логічні показники свідчать, що найбільш виражена диспропор-ційність та незбалансованість імунних реакцій виявлена на 7-у добу експерименту. Так, кількість плазматичних клітин у слизовій оболонці товстої кишки збільшилася на 25,5% порівняно з Ig M – на 80,56%, з Ig G – на 65,0%, а з Ig E – на 30,0%. Рівень sIg A при цьому виявився збільшеним на 33,3%.

На 14-у добу локальні імунні реакції були менш вираженими порівняно з попередніми.

Отримані та проаналізовані показники свідчать, що при токсичному гепатиті істотно змінюються локальні імунні реакції, що підтверджувалося нерівномірною, диспропорційною зміною числа плазматичних клітин, що продукують основні класи імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) та секреторного імуноглобуліну А. Знайдені процеси свідчили про напруженість та неповноцінність локальних імунних реакцій у слизовій оболонці товстої кишки при токсичному гепатиті.

Більшість дослідників вважають, що важливою ланкою локального імунного гомеостазу травної трубки є sIg A, який забезпечує «першу лінію імунного захисту» слизової оболонки від агресивної дії різних пошкоджуючи факторів. Зниження концентрації sIg A свідчить про суттєве порушення вказаного бар'єру захисту [5, 6, 12]. В проведених дослідженнях не спостерігалося зниження рівня sIg A у слизовій оболонці товстої кишки у різні строки токсичного гепатиту, проте відмічалося нерівномірне, диспропорційне збільшення кількості плазматичних клітин з Ig A, M, G, E у вказаній оболонці досліджуваного органа.

Деякі автори також вважають, що стабільності співвідношень між плазматичними клітинами з Ig A, Ig M, Ig G у слизових оболонках дихальних шляхів і шлунково-кишкового тракту належить основна роль у формуванні їхньої резистентності до різних ушкоджень і разом з sIg A вони створюють повноцінний локальний імунний гомеостаз. Виявлена нерівномірність та диспропорційність змін плазматичних клітин з основними класами імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) у різні строки токсичного гепатиту свідчила про суттєві порушення вказаних співвідношень, що вказувало на напруженість та нестабільність локальних імунних реакцій у слизовій оболонці товстої кишки [4, 7, 11, 12]. Імуноглобулінам належить важлива захисна функція, завдяки їм зменшується антигенна активність чужорідних речовин, антигенів, мікробів, що проникли в кишку. Імуноглобуліни істотно впливають та регулюють біоценоз кишок [2, 5, 6].

Варто також зазначити, що ступінь порушень співвідношень між плазматичними клітинами з основними класами імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) корелював з вираженістю структурної перебудови стінки товстої кишки при токсичному гепатиті, судинними розладами, дистрофічними, некробіотичними, інфільтративними процесами в ній.

Проведені імуноморфологічні дослідження свідчать, що при змодельованому токсичному гепатиті істотно змінюються локальні імунні реакції у слизовій оболонці товстої кишки. Динаміка змін досліджуваних імуноморфологічних показників слизової оболонки товстої кишки при токсичному гепатиті свідчить, що ці імунні реакції напружені та нестабільні, тобто локальний імунний гомеостаз досліджуваного органа істотно порушується при змодельованій патології.

Висновки

1. У слизовій оболонці товстої кишки при токсичному ураженні печінки спостерігаються напруженість та нестабільність локальних імунних реакцій, які характеризуються незбалансованим, диспропорційним збільшенням плазматичних клітин з Ig A на 25,5%, з Ig M – на 80,5%, з Ig G – на 65,0%, з Ig E – на 33,0%, рівня sIg A – на 33,3%. Ступінь локальних імунних змін корелює з глибиною та поширеністю патогістологічних ушкоджень досліджуваного органа.
2. Найбільш виражена диспропор-ційність та незбалансованість імунних реакцій виявлена на 7-у добу експерименту.
3. Ступінь порушень співвідношень між плазматичними клітинами з основними класами імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) корелював з вираженістю структурної перебудови стінки товстої кишки при токсичному гепатиті, судинними розладами, дистрофічними, некробіотичними, інфільтративними процесами в ній.

Перспективи подальших досліджень. Зміни локальних імунних реакцій товстої кишки при токсичному гепатиті потребують подальшого дослідження для враховування їх в практичній медицині при профілактиці, діагностиці та корекції вказаної патології.

References

1. Boyko TY, Tolstikova TM, Sorochan OV. Zmini yakosti zhittya u patsiyentiv iz khronichnimi zapalnimi zakhvoryuvannyami kishechniku pid vplivom likuvannya. *Suchasna hastroenterolohiya*. 2011; 5 (61): 36–40. [Ukrainian].
2. Bondar HV, Semikoz NH, Basheyev VKh. Shlyakhi pidvishchennya nadiynosti tovstokishkovikh anastomoziv. *Lvivskiy medichniy chasopis*. 2007; 13 (3): 122–6. [Ukrainian].
3. Hnatyuk MS, Ribitska LN. Lokalni imunni protsesi v tovstiy kishtsi pri toksichnomu koliti. *Problemi ekolohichnoi ta medichnoi henetiki i klinichnoi imunolohiyi*. 2001; 4 (36): 139–45. [Ukrainian].
4. Holubchikov MV. Statistichniy ohlyad zakhvoryuvanosti naselennya Ukraini na khvorobi orhaniv travlennya. *Suchasna hastroenterolohiya i hepatolohiya*. 2000; 1: 17-20. [Ukrainian].
5. Zvenihorodskaya LA, Shashkova IA. K voprosu o kliniko-funktsionalnykh i morfolohicheskikh osobennostyakh izmeneniy tolstoy kishki u bolnykh khronicheskoy abdominalnoy ishemiey. *RMZh*. 2004; 12 (24): 16-21. [Russian].
6. Ivanova SA. Osoblivosti funktsionuvannya imunnikh faktoriv shlunkovo-kishkovoho traktu. *Visnik naukovikh doslidzhen*. 2001; 4: 58–9. [Ukrainian].
7. Kimakovich VY, Chop'yak VV, Brodik OV. *Imunna sistema shlunkovo-kishkovoho traktu v normi ta patolohiyi*. Ternopil: Ukrmedkniha, 2004. 100 s. [Ukrainian].
8. Lisnichuk NYe. Dinamika mistsevikh imunnikh reaktsiy klubovoi kishki bilikh shchuriv z eksperimentalnim pankreatitom. *Visnik problem biolohiyi i meditsini*. 2006; 2: 120-2. [Ukrainian].
9. Nesterova IV, Shvydchenko IN. Osobennosti stroeniya i funktsionirovaniya immunnoy sistemy zheludochno–kishechnoho trakta. *Allerholohiya i immunolohiya*. 2002; 3 (2): 282–92. [Russian].
10. Potapnev MP. Apoptoz kletok immunnoy sistemy i eho rehulyatsiya tsitokinami. *Immunolohiya.* 2002; 4: 237–243. [Russian].
11. Fedoseeva OV, Syrtsov VK. *Immunomorfolohicheskie zakonomernosti kletochnoy orhanizatsii limfoidnykh uzelkov tolstoy kishki cheloveka v ontoheneze. Morfolohichniy stan tkanin i orhaniv sistem orhanizmu v normi ta patolohiyi*. Ternopil: Ukrmedkniha, 2009. s.182–3. [Russian].
12. Krinke G. *The laboratory rat*. London: Audemir Press, 2010. 756 p.
13. Longstreth GE, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. *Gastroenterology*. 2006; 150: 1480-91. PMID: 16678561. DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.061.
14. MacDonald TT, Monteleone G, Pender SL. Recent developments in the immunology of inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol*. 2000; 54 (1): 2–9. PMID: 10632969.

УДК 616.36-002-009-06:612

ТОКСИЧЕСКИЙ ГЕПАТИТ КАК ФАКТОР ИЗМЕНЕНИЙ ЛОКАЛЬНЫХ ИМУННЫХ РЕАКЦИЙ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ

Головатюк Л. М., Бондаренко Т. Є., Кратко О. В.

Резюме. Исследовали локальные иммунные реакции толстой кишки при токсическом гепатите. Обнаружили, что при смоделированном токсическом гепатите существенно изменяются локальные иммунные реакции в слизистой оболочке толстой кишки. Динамика изменений исследуемых иммуноморфологические показателей слизистой оболочки толстой кишки свидетельствует, что эти иммунные реакции напряженные и нестабильные, тоесть локальный иммунный гомеостаз исследуемого органа существенно нарушается при смоделированной патологии. При этом снижается защитный барьер и возникает воспалительный процесс в толстой кишке. Степень нарушений соотношений между плазматическими клетками с основными классами иммуноглобулинов (Ig A, Ig M, Ig G) коррелировал с выраженностью структурной перестройки стенки толстой кишки при токсическом гепатите, сосудистыми расстройствами, дистрофическими, некробиотическими, инфильтративными процессами в ней.

Ключевые слова: токсический гепатит, толстая кишка, локальные иммунные реакции.

UDC 616.36-002-009-06:612

Toxic Hepatitis as a Factor of Changes in Local Immune Reactions in the Colon Mucous Membrane

Holovatyuk L. M., Bondarenko T. E., Kratko O. V.

Abstract. According to data of the World Health Organization, diseases of the digestive system are among the most widespread in the world; they rank third after cardiovascular diseases and oncological pathologies.

Nowadays there is an increase in the colon lesions. The widespread damage of this organ of the digestive system can be attributed to the diseases of civilization. The reason for this increase in morbidity is, first of all, the chemicalization of all branches of human life. In particular, it is the widespread use of chemical substances not only in industry and agriculture, but also in the life of chemicals (especially chlorinated hydrocarbons), which

leads to the occurrence of complex pathological processes in all body and in the large intestine in particular. Among hydrocarbons, tetrachloromethane is especially dangerous. This is a widespread compound that is a part of detergents, varnishes, paints, solvents. This xenobiotic enters the human body mainly through the respiratory tract and the gastrointestinal tract and causes the development of pathological changes in various organs and systems. It should be noted that close anatomical and functional linkage of the digestive system causes the development of combined pathologies.

The aim of this work was to investigate local immune reactions in the colon mucous membrane with toxic hepatitis.

Local immune reactions in the colon mucous membrane with simulated toxic hepatitis have been investigated. We have revealed the unevenness and disproportionality of changes in plasma cells with the major classes of immunoglobulins (IgA, Ig M, Ig G) in different periods of toxic hepatitis.

The conducted immune morphological studies have established that already on the 2^{nd} day of simulated toxic hepatitis, local immune reactions in the mucous membrane of the large intestine have changed significantly. The most pronounced disproportionality and imbalance of immune responses were detected on the 7^{th} day of the experiment. At the 14^{th} day, local immune responses were less pronounced than previous ones.

The obtained and analyzed indices indicate that local hepatitis significantly changes local immune responses, which was confirmed by the uneven, disproportionate change in the number of plasma cells producing the major classes of immunoglobulins (IgA, IgM, IgG) and secretory immunoglobulin A. The findings showed tension and inferiority of local immune reactions in the colon mucous membrane with toxic hepatitis.

It should also be noted that the degree of correlation between plasma cells with the major classes of immunoglobulins (Ig A, Ig M, Ig G) correlated with the severity of the structural reconstruction of the colon wall with toxic hepatitis, vascular disorders, dystrophic, non-fibrotic, infiltrative processes in it.

The performed immune morphological studies indicate that localized immune reactions in the colon mucous membrane undergo significant changes in simulated toxic hepatitis. The dynamics of the studied immuno morphological parameters of the colon mucous membrane with toxic hepatitis suggests that these immune reactions are intense and unstable, that is, the local immune homeostasis of the investigated organ is substantially disrupted in the modeled pathology.

Changes in local colonic immune responses with toxic hepatitis require *further research* to take into account them in practical medicine for the prevention, diagnosis and correction of this pathology.

Keywords: toxic hepatitis, large intestine, local immune responses.

Стаття надійшла 11.09.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування