УДК 611.33.08: 612.017

С. С. Ключко, В. М. Євтушенко
Запорізький державний медичний університет МОЗ України, м. Запоріжжя

РОЛЬ СУДИННОГО КОМПОНЕНТУ У ФОРМУВАННІ ЛІМФОЇДНОЇ ТКАНИНИ ШЛУНКА ЩУРІВ У РАННЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО ВЕДЕННЯ АНТИГЕНУ

В роботі досліджені зміни гемомікроциркуляторного русла слизової оболонки шлунка щурів з 1 по 90 добу постнатального онтогенезу після внутрішньоутробного введення антигену. Встановлено, що внутрішньоутробне антигенне навантаження призводить до збільшення кількості та калібру всіх ланок мікроциркуляторного руслу (артеріол, венул, капілярів) слизової оболонки шлунка на тлі зростання вмісту лімфоцитів. Доведено, що судинне русло шлунка знаходиться в тісному взаємозв'язку з його місцевим лімфоїдним апаратом. Лімфоїдні структури і система мікроциркуляції генетично детерміновані і представляють собою єдину систему швидкої відповіді на антиген, активно регулюючи місцевий імунний гомеостаз.

Ключові слова: шлунок, щури, мікроциркуляція, лімфоцити, антиген.

Робота є фрагментом НДР«Морфофункціональні особливості слизових оболонок і внутрішніх органів людини і тварин в нормі і після введення антигену», державна реєстрація № 0103U00939.

Згідно концепції А. М. Чернуха [7], аналіз адаптивних реакцій органу необхідно проводити з урахуванням змін наступних елементів: сполучної тканини, мікроциркуляторного русла, нервово-гуморального апарату, робочої частини органу. Однак ще є структури, що локалізуються всередині органів і також беруть участь у формуванні імунних адаптивних реакцій - дифузно розташовані лімфоїдні клітини, їх скупчення, поодинокі і згруповані лімфоїдні вузлики [2, 6]. В слизових оболонках вони об'єднуються в одну структуру з епітелієм – лімфоепітеліальні вузлики, або з кровоносними судинами – периваскулярні лімфоїдні вузлики, роль яких у формуванні реакцій місцевої імунної системи підтверджується вивченням їх морфофункціональних особливостей в онтогенезі і при антигенному подразненні [1, 3, 4, 5]. Тому є актуальним вивчення змін у структурі гемомікроциркуляторного русла при формуванні лімфоїдної тканини шлунка після внутрішньоутробної антигенної стимуляції.

Метою роботи було дослідження морфофункціональних змін гемомікроциркуляторного русла шлунка щурів у ранньому постнатальному періоді після внутрішньоутробного введення антигену.

Матеріал та методи дослідження. В якості об'єктів дослідження взято шлунки щурів лінії Вістар у віці від 1 до 90 доби постнатального розвитку. В експерименті використовували 5 груп тварин: перша - інтактні щури, друга і третя - експериментальні тварини, яким вводили інактивовану спліт-вакцину для профілактики грипу Ваксігрип відповідно внутрішньоплідно та в навколоплідні води, четверта і п'ята група - контрольні, тваринам яких вводили фізіологічний розчин хлориду натрію відповідно внутрішньоплідно та в навколоплідні води на 18 добу внутрішньоутробного розвитку. Залежно від строку експеримента (1, 3, 7, 14, 21, 45, 90 добу) щури кожної групи були розділені на 7 підгруп. У кожній підгрупі по 6 тварин. Як антиген була обрана спліт-вакцина для профілактики грипу інактивована Ваксігрип (Санофі Пастер С.А. Франція), яка є зареєстрованим фармакологічним препаратом (сертифікат про державну реєстрацію медичного імунологічного препарату № 6367-300200000 від 7 липня 2011). Вводили у дозі 0,025 мл розчину вакцини і 0,025 мл фізіологічного розчину тваринам другої і третьої груп. Плодам контрольних груп вводили ізотонічний 0,9% розчин NaCI у дозі 0,05 мл. При роботі з експериментальними тваринами керувалися «Правилами використання лабораторних експериментальних тварин» (2006, додаток 4) і Гельсінською декларацією про гуманне ставлення до тварин. Тварин виводили з експерименту шляхом передозування тіопенталовим наркозом. Для морфологічного дослідження матеріал брали з фундальної частини шлунка, слизова оболонка якої вистлана одношаровим призматичним залозистим епітелієм. Шматочки матеріалу фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в батареї спиртів зростаючої концентрації, потім заливали у парафін і виготовляли серійні зрізи товщиною 4-5 мкм, які забарвлювали гематоксиліном Караццi та еозином.

Кровоносні судини мікроциркуляторного русла класифікувалися на артеріоли, венули і капіляри [6, 7]. Відносно елементів ГМЦР вимірювали діаметр просвіту артеріол, венул та капілярів слизової оболонки фундального відділу шлунка та підраховували їх середню кількість на умовній одиниці площі 100 мкм^2 в 10 полях зору трьох зрізів кожного шлунка при імерсійному збільшенні мікроскопа (об.90, ок.10) на світловому бінокулярному мікроскопі Granum. За

артеріоли брали судини діаметром 10-40 мкм, що мають у середній оболонці більше, ніж один шар гладких клітин, добре розвинену внутрішню еластичну мембрану. Капіляри представляли собою дрібні кровоносні судини діаметром 4-10 мкм, стінка яких складається з ендотелію, базальної мембрани, адвентиціальних клітин і перицитів. До венул відносилися кровоносні судини діаметром 20-50 мкм. , внутрішній шар яких утворений високими ендотеліальними клітинами. Між ними і гладком'язовими клітинами середньої оболонки малася нечітко виражена тонка мембрана. Гладком'язові клітини у венулах представлені частіше одним шаром.

Кількісний аналіз результатів морфометричного дослідження та статистичну обробку морфометричних даних проводили за допомогою стат. пакета ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). Оцінювали правильність розподілу ознаки по кожному з отриманих варіаційних рядів, середні значення по кожній ознаці, які вивчалися, стандартні помилки і стандартні відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними величинами вивчали за допомогою критерію Стьюдента. Відмінності двох середніх величин вважали статистично достовірними при $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. У тварин першої доби життя навколо кровоносних судин спостерігались скупчення лімфоцитів, серед яких найбільшу частину складали малі лімфоцити. Спостерігалась міграція лімфоцитів через шари у складі венул до оточуючої їх сполучнотканинної строми власної пластинки слизової оболонки шлунка.

Кількість та діаметр судин гемомікроциркуляторного руслу слизової оболонки шлунка на першу добу життя після внутрішньоутробної антигенної стимуляції збільшувалися, в порівнянні з контрольною та інтактної групами, незалежно від шляху введення антигену.

В інтактній групі середня кількість артеріол - 1,46±0,03 у полі зору. У тварин першої доби після народження кількість артеріол у групі з внутрішньоплідним введенням антигену більше в порівнянні з тваринами інтактної групи на 9%, а у групі з введенням антигену до навколоплідних вод – більше на 26%. Середній діаметр артеріол власної пластинки слизової оболонки шлунку щурів на першу добу після народження в інтактній групі становив 21,2±0,05 мкм. У другій експериментальній групі середній діаметр артеріол зростав на 10%, у третій - на 13%. В інтактній групі тварин на першу добу середня кількість венул становила 3,80±0,04 у полі зору. У групі, антиген яким було введено внутрішньоплідно, вміст венул збільшувався на 30% у полі зору. У тварин після введення антигену у навколоплідні води їх вміст збільшувався на 40%.

Середній діаметр венул слизової оболонки шлунка щурів на першу добу життя в інтактній групі становив 35,4±0,38 мкм. У другій експериментальній групі зростав на 10%, у третій - на 7%. В інтактній групі середня кількість капілярів становила 6,35±0,04 в полі зору. У тварин першої доби після народження кількість капілярів у тварин з внутрішньоплідним введенням антигену більше в порівнянні з тваринами інтактної групи на 2%, а в групі з введенням антигену до навколоплідних вод – на 6%. Середній діаметр капілярів слизової оболонки шлунка щурів на першу добу життя в інтактній групі становив 5,58±0,45 мкм. У другій експериментальній групі зростав на 7%, у третій - на 4%.

У тварин інтактної та контрольної груп на третю добу після народження кількість артеріол у власній пластинці слизової оболонки шлунка статистично вірогідно не відрізнялась. В інтактній групі середня кількість артеріол складала 2,10±0,02 у полі зору, після внутрішньоплідного введення антигену зростала на 57%, після введення антигену до навколоплідних вод – на 60%. Середній діаметр артеріол у слизовій оболонці шлунка на третю добу після народження в інтактній групі становив 21,8±0,13 мкм. У другій експериментальній групі він зростав на 7%, у третій - на 10%.

У тварин інтактної та контрольної груп на третю добу після народження вміст венул у слизовій оболонці шлунка статистично вірогідно не відрізнявся (4,91±0,05 у полі зору). Кількість венул у власній пластинці слизової оболонки шлунка у антигенпремійованих тварин другої та третьої експериментальних груп збільшувалась на 26% і 28% відповідно, порівняно з тваринами інтактної та контрольної груп. Середній діаметр венул слизової оболонки шлунка щурів на третю добу життя в інтактній групі становив 37,5±1,02 мкм. У другій та третій експериментальних групах зростав на 11% та 7%.

У щурів інтактної групи на третю добу життя кількість кровоносних капілярів слизової оболонки шлунка становила 7,15±0,06 у полі зору, у другій та третій експериментальних групах зросла на 5%. Середній діаметр капілярів слизової оболонки шлунка щурів на третю добу життя у інтактній та двох експериментальних групах становив 6,01±0,05 мкм.

На сьому добу життя збільшувались кількість та розміри артеріол, венул і капілярів у слизовій оболонці шлунка у інтактній групі, в порівнянні з попереднім строком спостереження. Судинну стінку у артеріолах у цей термін як і в попередні, можна поділити на два шари: ендотелій зі слабо вираженою субендотеліальною пухкою сполучною тканиною і шаром гладком'язових клітин, оточених слабо розвиненою адвентиціальною оболонкою.

У силу надзвичайно складної архітектоніки венозного руслу і його варіабельності, виявити характерні особливості стінок, у залежності від їх калібру не представлялося можливим. Характерні риси будови посткапілярних венул слизової оболонки шлунку складалися з тонких стінок, широкого діаметру, своєрідних високих ендотеліальних клітин, слабо розвиненої мережі колагенових волокон.

У тварин на сьому добу після народження навколо кровоносних судин спостерігалися скупчення лімфоцитів, серед яких велику частину складали малі лімфоцити. Лімфоцити мігрували через стінку венул у оточуючу їх сполучнотканинну строму власної пластинки слизової оболонки шлунку. Зберігалася тенденція до збільшення кількості та діаметру судин гемомікроциркуляторного русла слизової оболонки шлунка на сьому добу життя після внутрішньоутробної антигенної стимуляції, в порівнянні з контрольною та інтактною групами, незалежно від шляху введення антигену.

У тварин на чотирнадцяту добу після народження з'являлася більш густа мережа артеріол, венул. Артеріоли з підслизового сплетіння досягали слизової оболонки та формували під залозами шлунка судинну мережу, від якої відходили капіляри, які оточували дно залоз.

В інтактній групі середня кількість артеріол становила 6,05±0,08 у полі зору, після внутрішньоплідного введення антигену на 18%, а після введення антигену у навколоплідні води - на 21%. Середній діаметр артеріол слизової оболонки шлунка на чотирнадцяту добу життя в інтактній групі не змінився порівняно з попереднім терміном спостереження та складав 32,5±0,25 мкм. У другій експериментальній групі збільшувався на 13%, у третій - на 11%. Кількість венул у слизовій оболонці шлунка у антигенпремійованих тварин чотирнадцятої доби життя збільшувалась на 12%, незалежно від шляху введення антигену. Середній діаметр венул слизової оболонки шлунка в інтактній групі становив 44,8±1,43 мкм. У другій експериментальній групі збільшувався на 4%, у третій – на 3%.

В інтактній групі середня кількість капілярів не змінилась з попереднім терміном спостереження і становила 10,8±0,09 у полі зору. Після внутрішньоплідного введення антигену зросла 10%, після введення в навколоплідні води – на 8%. Середній діаметр капілярів слизової оболонки шлунка щурів на чотирнадцяту добу життя в інтактній та у другій експериментальній групах становив 8,56±0,16 мкм. У третій експериментальній групі тварин показник середнього діаметру капілярів зростав на 13%.

На протязі з двадцять першої по дев'яносту добу постнатального життя зберігалася тенденція до збільшення кількості та діаметру судин гемомікроциркуляторного руслу слизової оболонки шлунка після внутрішньоутробної антигенної стимуляції, порівняно з контрольною та інтактною групами, незалежно від шляху введення антигену. Навколо мікросудин спостерігалося явище лейкопедезу: лімфоцити мігрували через стінку венул у оточуючу їх сполучнотканинну строму власної пластинки слизової оболонки шлунка. В пухкій сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки та у підслизовій оболонці спостерігалося збільшення кількості колагенових волокон та кровоносних судин.

У тварин сорок п'ятої доби постнатального періоду в слизовій оболонці дна шлунка вперше з'являлися поодинокі рідкісні лімфоїдні вузлики. Новоутворення судин мікроциркуляторного руслу у віці 45 - 90 доби після народження інтенсивно продовжувалося шляхом відбрунькування від попередніх мікросудин. У постнатальному онтогенезі процес новоутворення судин у шлунку пов'язаний з прогресивним посиленням і вдосконаленням будови і функції лімфоїдних утворень, а також виникненням нових. Зокрема, зростання нових капілярів йде паралельно зростанню кількості лімфоїдних утворень.

Встановлені дані в результаті проведеного експериментального дослідження доповнюють відомості про роль реактивності судин мікроциркуляторного русла, як фактора, який впливає на морфофункціональний стан лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизовою оболонкою шлунка. Встановлено, що після внутрішньоутробної антигенної стимуляції збільшувалася площа, займана різними ланками мікроциркуляторного русла слизової оболонки шлунка.

Отримані відомості збігаються з даними авторів, які досліджували раніше кількість і площу різних ланок гемомікроциркуляторного русла після антигенної стимуляції в передміхуровій залозі, легенях, дермі шкіри, тимусі, глотці, суглобовой капсулі [1, 2, 3, 4, 5].

Отримані дослідниками дані показують, що процесу імуностимуляції шляхом введення антигена відповідає певний морфологічний і гістологічний еквівалент, що полягає в реактивних і клітинних змінах не тільки лімфоїдної, а й усієї сполучної тканини, в тому числі судинах мікроциркуляторного русла.

Підсумок

Після внутрішньоутробного введення антигену відзначається тенденція до збільшення кількості та калібру всіх ланок мікроциркуляторного руслу (артеріол, венул, капілярів). Судинне русло шлунка знаходиться в тісному взаємозв'язку з його місцевим лімфоїдним апаратом. Лімфоїдні структури і система мікроциркуляції генетично детерміновані і представляють собою єдину систему швидкої відповіді на антиген, активно регулюючи місцевий імунний гомеостаз.

Перспективи подальших досліджень. *В подальшому планується дослідження мікроциркуляторного русла слизової оболонки шлунка щурів за допомогою імуногістохімічних маркерів та вивчення ультрамікроскопічних змін у будові мікросудин на тлі збільшеного антигенного навантаження у пренатальний період онтогенезу.*

Список літератури

1. Yevtushenko V. M. Reativnyie osobennosti limfoidnoy populyatsii soedinitelnoy tkani predstatelnoy zhelezyi posle antigennogo vozdeystviya / V. M. Yevtushenko, V. K. Syirtsov // Zapor. med. zhurn. – 2004. - No 4 (25). – S. 114 – 115.
2. Syrtsov V. K. Morfofunktsionalnyie izmeneniya limfoidnoy tkani organov dyihaniya pri vvedenii gamma–globulina / V. K. Syrtsov // Arhiv anatomii, gistologii i embriologii. – Leningrad, - 1983. – T. LXXXIV, No 3. –45 s.
3. Syrtsov V. K. Zakonomernosti variabelnosti limfoidnyih struktur perifericheskogo zvena immunnoy sistemy / V. K. Syrtsov, V. M. Yevtushenko, S. P. Kovalev, [i dr.] // Visnyk problem biologiyi ta medytsyny. – 2003. – Vyp. 3. – S. 87 – 88.
4. Smirnova L. E. Osobennosti mikrotsirkulyatsii v slizistoy obolochke zheludka pri gastroduodenalnoy patologi / L. E. Smirnova, V. A. Solovyev // Morfologiya. – 2004. – T. 126, No 4. – S. 114.
5. Syrtsov V. K. Kontseptsiya antigenno-strukturnogo gomeostaza i problema gistogeneza / V. K. Syrtsov, O. V. Fedoseyeva, E. I. Pototskaya [i dr.] // Svit medytsyny ta biologiyi. – 2006. - No 2. – S. 120-124.
6. Seliverstov S. S. Arhitektonika krovenosnogo rusla slizistoy obolochki pischevodno-zheludochnogo perehoda / S. S. Seliverstov // Visnyk morfologiyi. – 2010. – T. 16, No 1. – S. 105 – 108.
7. Haitov R. M. Immunnaya sistema zheludochno-kishechnogo trakta: osobennosti stroeniya i funktsionirovaniya v norme i pri patologii // R. M. Haitov, B. V. Pinegin // Immunologiya. – 1997. - No 5. – S. 4 – 7.

Реферати

РОЛЬ СОСУДИСТОГО КОМПОНЕНТА В ФОРМИРОВАНИИ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ЖЕЛУДКА КРЫС В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО ВЕДЕНИЯ АНТИГЕНА

Ключко С. С., Евтушенко В. М.

В работе исследованы изменения гемомикроциркуляторного русла слизистой оболочки желудка крыс с 1 по 90 сутки постнатального онтогенеза после внутриутробного введения антигена. Установлено, что внутриутробная антигенная нагрузка приводит к увеличению количества и калибра всех элементов микроциркуляторного русла (артериол, венул, капилляров) слизистой оболочки желудка на фоне увеличения содержания лимфоцитов. Доказано, что сосудистое русло желудка находится в тесной взаимосвязи с его местным лимфоидным аппаратом. Лимфоидные структуры и система микроциркуляции генетически детерминированные и представляют собой единую систему быстрого ответа на антиген, активно регулируя местный иммунный гомеостаз.

Ключевые слова: желудок, крысы, микроциркуляция, лимфоциты, антиген.

Стаття надійшла 09.10.2014 р.

ROLE OF VASCULAR COMPONENT IN THE FORMATION OF RAT STOMACH LYMPHOID TISSUE IN THE EARLY POSTNATAL PERIOD AFTER INTRAUTERINE REFERENCE ANTIGEN

Klyuchko S.S., Yevtushenko V.M.

As the objects of the study were taken stomachs of Wistar rats aged 1 to 90 days of postnatal development after intrauterine reference antigen. It was found that after intrauterine antigenic stimulation the area occupied by different layers of the microcirculation of the gastric mucosa increased. The data show that the process of immunostimulation by administering antigen corresponds to a morphological and histological equivalent that is reactive and cellular changes not only of the lymphoid but also of all connective tissue, including blood vessels of the microcirculation channel. After the intrauterine introduction of antigen there was a tendency to increase the number and the caliber of all parts of the microcirculation channel (arterioles, venules, capillaries).

Key words: stomach, rats, microcirculation, lymphocytes, antigen.

Рецензент Кущ О.Г.