© Таврог М. Л., Сирцов В. К., Зідрашко Г. А., Алієва Е. Г., Хитрик А. Й.

УДК 611.34-018.7

Таврог М. Л., Сирцов В. К., Зідрашко Г. А., Алієва Е. Г., Хитрик А. Й.

ГІСТОЛОГІЧНІ І ГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕПІТЕЛІЮ ЧЕРВОПОДІБНОГО ВІДРОСТКА ЛЮДИНИ В ПЕРШІЙ ПОЛОВИНІ ГРУДНОГО ПЕРІОДУ

Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя)

tavrog@mail.ru

Робота є фрагментом наукової теми «Морфофункціональні особливості слизових оболонок і внутрішніх органів людини і тварин в нормі і після введення антигену», (2012-2017 рр., державна реєстрація № 0103U00939).

Вступ. Інтерес до червоподібного відростка зумовлений його анатомічним розташуванням, до кінця нез'ясованою функцією і невирішеною проблемою апендициту [1,2].

Існуючі відомості про морфофункціональні особливості епітелію червоподібного відростка людини в грудному періоді онтогенезі нечисленні, носять суперечливий характер і потребують вивчення за допомогою сучасних методик [3,5,7]. Відсутність даних в ці вікові періоди не дозволяє визначити закономірності морфофункціонального дозрівання червоподібного відростка (Лебедєв К.А., 1991, Бажора Ю.И. 2001, Хлыстова З.И., 1981). Комплексне гістологічне, гістохімічне і імуногістохімічне дослідження червоподібного відростка розширює уявлення про його будову і функцію і може використовуватися у вивченні патогенезу захворювань.

Мета дослідження. Встановити морфофункціональні особливості епітелію червоподібного відростка людини в грудному періоді.

Об'єкт і методи дослідження. Матеріалом дослідження стали червоподібні відростки (26); загиблих від нещасних випадків і інших захворювань, виключаючи захворювання шлункового тракту, імунної системи і кровотворення.

Для вікової періодизації постнатального періоду онтогенезу у людини використана схема, прийнята на YII Всесоюзної конференції з проблем вікової морфології, фізіології та біохімії АПН СССР в м. Москві в 1965 році і на IX Міжнародному конгресі геронтологів (Київ, 1972).

Для визначення віку використали ці історії хвороби або пологів, протоколи розкриття і шляхом виміру тім'яно-копчикової довжини по Шульцу А. (1926 р.).

Червоподібний відросток фіксували в 10% нейтральному формаліні, заливали в парафін по загальноприйнятій методиці.

Серійні зрізи завтовшки 5-6 мкм, забарвлювали гематоксиліном Карацци, Эрлиха і еозином, метиловим зеленим і піроніном по Браше. Ідентифікація клітин проводилася згідно з вказівками (Бикова В.П., 1995; Капханюк В.Д., 2000). Термінологія застосована відповідно до міжнародної гістологічної і ембріологічної номенклатури (Іванова А.Й., Чайковський Ю.Б., Луцик О.Д., 2001). Кількість міжепітеліальних розташованих лімфоцитів підраховували на 100 епітеліоцитів.

Вуглеводовмісні з'єднання виявляли за схемою (Авцын А.П. и соавт. 1971). Нейтральні протеоглікани виявлялися реакцією Шик по Хочкису (1948 р.) Для визначення глікогену і сіалових кислот зрізи заздалегідь обробляли амілазою і сіалідазою.

З метою морфофункціональної характеристики різних популяцій клітин, використали специфічні лектини: лектини арахісу (PNA+), сої (SBA+), пшениці (WGA+) [Луцик А.Д. 1989.], використовуючи стандартні набори лектинів НВК «Лектинтест» (м. Львів).

Імуногістологічні дослідження проводили з використанням моноклональних антитіл: 1) *Mo a – Hu Ki – 67 Antigen, Clone MIB – 1* проти маркера антигена клітинної проліферації *Ki – 67*, 2) *Mo a – Hu CD20cy, Clone L26* проти кластера диференціювання В-лімфоцитів, 3) *Mo a – Hu CD8, T – Cell, Clone C8/144B* проти кластера диференціювання Т-кілерів («DAKO», США), 4) *Rb a – Hu CD3, Clone SP7* проти кластера диференціювання Т-лімфоцитів, 5) *Mo a – Hu CD4 Ab – 8, Clone 4B12* проти кластера диференціювання Т-хелперів, 6) *Mo a – Hu Caspase 3 Ab – 3, Clone 3CSP03* проти апоптоз-специфической протеїнази каспаза-3 («NeoMarkers», США) і системи візуалізації UltraVision LP («Thermo Scientific LabVision», США).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили на персональному комп'ютері в програмі «STATISTICA® for Windows 6,0» (StatSoft Inc., ліцензія № AXXR712D833214FAN5). Обчислювали середнє значення (M), стандартну помилку репрезентативності середнього значення (m), розраховували 95% довірчий інтервал середнього значення. Результат вважали достовірними при $p<0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. У першій половині грудного періоду (десяти діб – п'яти місяців) слизова оболонка червоподібного відростка людини представлена одношаровим однорядним стовпчастим мікроворсинчастим епітелієм на всьому протязі цього періоду. Призматичні клітини епітелію зберігають полярність будови і текторіальні властивості. Великі овальні ядра містять 1-2 ядерця, розташовані у базальних частинах клітин. Висота клітин до кінця цього періоду збільшується [4,6].

Упродовж досліджуваного періоду у апікальних частинах збільшується синтез ШІК-позитивних речовин. Після обробки амілазою і сіалідазою ці речовини можна віднести до нейтральних протеогліканів і сіалових кислот. Аналогічні глюкозаміноглікани відмічені і в складі глікокалікса на поверхні епітеліоцитів одношарового однорядного стовпчастого мікроворсинчастого епітелію червоподібного відростка людини. Смужка глікокалікса розширюється на поверхні епітеліоцитів. Наростає вміст келихоподібних клітин в складі покривного епітелія і крипт слизової оболонки червоподібного відростка людини з першого по п'ятий місяць грудного періоду, вони продукують протеоглікани і сіалові кислоти в співвідношенні 2:1.

Серед клітин покривного епітелію і крипт слизової оболонки червоподібного відростка людини в першій половині грудного періоду досліджень постійно виявляються малі лімфоцити, на поверхні яких виявлені рецептори до лектину арахісу PNA+ **(рис. 1).**

А імуногістохімічно позитивну експресію CD3+ – тобто за функціональними особливостями відносяться до популяції Т-хелперів, з позитивною експресією CD4+. Міграція лімфоцитів в епітелій з прилеглої пухкої волокнистої сполучної тканини, прогресивно збільшується з першого по п'ятий місяць.

Базальна мембрана одношарового призматичного епітелію червоподібного відростка людини в грудному періоді 10 днів – 5 міс. чітко контурує, лектингістохімічно забарвлюється лектинами зав'язі пшениці – WGA+. В ній виявлені нейтральні протеоглікани. Цілісність її в області лімфоепітеліальних вузликів порушується лімфоцитами, що мігрують в епітелій.

У криптах слизової оболонки червоподібного відростка людини в клітинах одношарового однорядного стовпчастого епітелія в першій половині грудного періоду (десять діб – п'ять місяців) визначаються аналогічні з покривним епітелієм подібні гістологічні і гістохімічні ознаки. У апікальних відділах стовпчастих епітеліоцитів виявляється слабкопозитивна реакція ШІК. На поверхні епітелію і секретуючих келихоподібних клітин виявляються нейтральними протеоглікани і сіалові кислоти, їхній вміст прогресивно збільшується до п'ятого місяця життя. Вміст секретуючих келихоподібних клітин в епітелії крипт, що продукують нейтральні протеоглікани і сіалові кислоти, прогресивно збільшується до п'ятого місяця.

В епітелії крипт слизової оболонки червоподібного відростка дітей в першій половині грудного віку (з першого – по п'ятий місяць) виявляються стовпчасті епітеліоцити з позитивною експресією маркера проліферації Ki-67+ **(рис. 2).** Вони розміщені на дні крипт. Їхня кількість зростає в порівнянні з попереднім періодом. За рахунок цих клітин здійснюється регенерація клітин покривного епітелія і крипт. Епітелій крипт лежить на базальній мембрані, що чітко контурується. Базальна мембрана складається з тонких колагенових волокон та міжклітинної речовини, колагенові волокна виявляються за допомогою метода Масона, а в складі міжклітинної речовини між волокнами визначаються нейтральні протеоглікани.

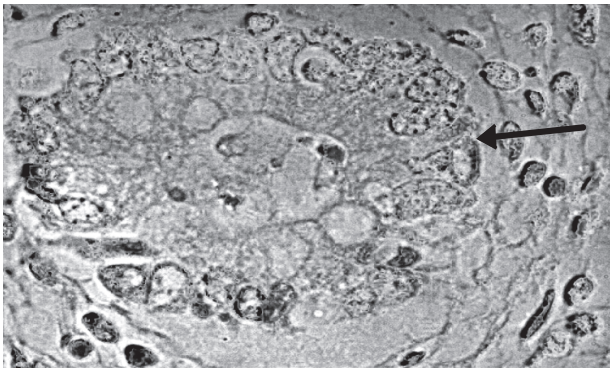

Рис. 1. Розподіл рецепторів до лектину арахісу PNA+ в криптах червоподібного відростка людини. Вік (4 місяця), PNA+ лімфоцит (показано стрілкою). Зб. х1000.

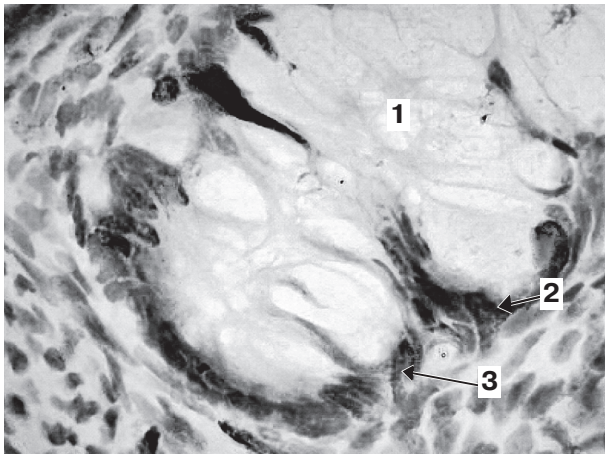

Рис. 2. Позитивна експресія Ki-67+ в криптах червоподібного відростку людини у грудному періоді. Імуногістохімічна реакція з Ki-67+ Antigen, Clone MIB-1, хромоген DAB+. Дозабарвлення гемотоксиліном. Зб. х 400. 1 – крипта; 2 – епітеліоцит; 3 – клітина у стадії проліферації.

Висновки

Таким чином, узагальнюючи результати досліджень морфофункціональних особливостей епітелію червоподібного відростка в грудного періоду в покривному одношаровому призматичному епітелії слизової оболонки червоподібного відростка людини і епітелії крипт збільшувалась кількість келихоподібних клітин, посилювався синтез протеогліканів та сіалових кислот. Зростав вміст внутрішньоепітеліальних лімфоцитів, які функціонально відносились до Т-лімфоцитів (з позитивною експресією CD3 та PNA). Лектингістохімічні епітеліоцити мають рецептори до лектину пшениці WGA+. Серед епітеліальних клітин крипт є клітини у стадії проліферації Ки 67+.

Перспективи подальших досліджень. Вивчити з використанням більшого обсягу СД маркерів Т-лімфоцити та їх значення в місцевому імунітеті.

Література

1. Костиленко Ю.П. Структурно-функциональная характеристика червеобразного отростка людей в возрастном аспекте / Ю.П. Костиленко, В.Г. Гринь // Світ медицини та біології. – 2012. – № 2. – С. 103-106.
2. Назаров И.В. Топографо-анатомические критерии диагностики острого аппендицита / И.В. Назаров, Ю.М. Шутов, А.П. Надеев // Медицина и образование в Сибири. – 2013. – № 1.
3. Попович Ю.І. Морфологічний стан лімфоцитів червоподібного відростка людини у дітей / Ю.І. Попович // Актуальні проблеми морфології : матеріали наук.-практ. конф. – Тернопіль, 2010. – С. 127-129.
4. Сырцов В. К. Патоморфологические критерии местной иммунологической резистентности слизистых оболочек / В.К. Сырцов, В.М. Евтушенко, Г.П. Койгушская, О.В. Федосеева // Запорож. мед. журн. – 2005. – № 6 (33). – С. 105-106.
5. Туманов А.В. Развитие вторичных лимфоидных органов / А.В. Туманов // Иммунология. – 2004. – Т. 25, № 2. – С. 120-128.
6. Хаитов Р.М. Современные представления о защите организма от инфекции / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2000. – № 1. – С. 60-64.
7. Identical T cell clones are located within the mouse gut epithelium and lamina propia and circulate in the thoracic duct lymph / T. Arstila, T.P. Arstila, S. Calbo [et al.] // J. Exp. Med. – 2000. – Vol. 191, № 5. – P. 823-834.

УДК 611.34-018.7

ГІСТОЛОГІЧНІ І ГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕПІТЕЛІЮ ЧЕРВОПОДІБНОГО ВІДРОСТКА ЛЮДИНИ В ПЕРШІЙ ПОЛОВИНІ ГРУДНОГО ПЕРІОДУ

Таврог М. Л., Сирцов В. К., Зідрашко Г. А., Алієва Е. Г., Хитрик А. Й.

Резюме. У першій половині грудного періоду (десяти діб – п'яти місяців) слизова оболонка червоподібного відростка людини представлена одношаровим однорядним стовпчастим мікроворсинчастим епітелієм на всьому протязі цього періоду. Упродовж досліджуваного періоду у апікальних частинах збільшується синтез ШІК-позитивних речовин. Серед клітин покривного епітелію і крипт слизової оболонки червоподібного відростка людини постійно виявляються малі лімфоцити, на поверхні яких виявлені рецептори до лектину арахісу PNA+, CD3+ – тобто за функціональними особливостями відносяться до популяції Т-хелперів, з позитивною експресією CD4+. Виявляються стовпчасті епітеліоцити з позитивною експресією маркера проліферації Ki-67+. Вони розміщені на дні крипт.

Ключові слова: червоподібний відросток людини, епітелій, перша половина грудного періоду.

УДК 611.34-018.7

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭПИТЕЛИЯ ЧЕРВЕОБРАЗНОГО ОТРОСТКА ЧЕЛОВЕКА В ПЕРВОЙ ПОЛОВИНЕ ГРУДНОГО ПЕРИОДА

Таврог М. Л., Сырцов В. К., Зидрашко Г. А., Алиева Е. Г., Хитрик А. И.

Резюме. В первой половине грудного периода (десять суток – пять месяцев) слизистая оболочка червеобразного отростка человека представлена однослойным однорядным столбчатым микроворсинчатым эпителием на всем протяжении этого периода. В течение исследуемого периода в апикальных частях увеличивается синтез ШИК-положительных веществ. Среди клеток покровного эпителия и крипт слизистой оболочки червеобразного отростка человека постоянно выявляются малые лимфоциты, на поверхности которых обнаружены рецепторы к лектину арахиса PNA +, CD3 + – то есть по функциональным особенностям относятся к популяции Т-хелперов, с положительной экспрессией CD4 +. Выявляются столбчатые эпителиоциты с положительной экспрессией маркера пролиферации Ки-67 +. Они размещены на дне крипт.

Ключевые слова: червеобразный отросток человека, эпителий, первая половина грудного периода.

UDC 611.34-018.7

COMPLEX HISTOLOGICAL, HISTOCHEMICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF THE HUMAN APPENDIX IN THE FIRST HALF OF INFANCY PERIOD

Tavrog M. L., Sirtzov V. K., Zidrashko G. A., Alieva E. G., Khitrik A. I.

Abstract. *The purpose of the reaserch*: to determine the morpho-functional features of the epithelium of the human appendix in the late prenatal ontogenesis.

Materials and methods: appendixes of human fetuses (26), which deaths from accidents and other diseases, excluding gastro tract, the immune system and hematopoiesis.

Immunohistological studies with monoclonal antibodies were performed:

1) Mo a – Hu Ki – 67 Antigen, Clone MIB – 1; 2) Mo a – Hu CD20cy, Clone L26; 3) Mo a – Hu CD8, T – Cell, Clone C8 / 144B; 4) Rb a – Hu CD3, Clone SP7; 5) Mo a – Hu CD4 Ab – 8, Clone 4B12; 6) Mo a – Hu Caspase 3 Ab – 3, Clone 3CSP03 and visualization system UltraVision LP («Thermo Scientific LabVision», USA).

In the first half of infancy period (ten dib- five months) mucosa appendix man presented row single layer columnar epithelium mikrovorsynchastym throughout this period. Prismatic epithelial cells retain the structure and polarity tektorialni properties. The large oval nucleus contains nucleoli 1-2 located in parts of the basal cells. The height of the cells by the end of this period increases.During the study period in the apical parts increases the synthesis of SHIK-positive substances. After processing amylase and sialidazoyu these substances can be classified as neutral proteoglycans and sialic acids. Similar hlyukozaminohlikany marked and as part of glycocalyx on the surface of epithelial-row single-layer columnar epithelium mikrovorsynchastoho appendix person. The bar extends glycocalyx on the surface of epithelial cells. There is growing contents of goblet cells in the epithelium covering

part of the crypts and mucosa of the appendix man from the first to the fifth thoracic month period, they produce proteoglycans and sialic acid in a ratio of 2: 1. Among cell surface epithelium crypts and mucosa of the appendix human breast in the first half period of research are always small cells on the surface are found receptors for peanut lectin PNA +. A immunohistochemical positive expression of CD3 + – the functional features relating to population of T-helper cells with positive expression of CD4 + In the epithelium of the crypts of the mucous membrane of the appendix of children in the first half of infancy (the first – in the fifth month) are columnar epithelial cells with positive expression proliferation marker Ki-67.

Keywords: epithelium, human appendix, first half of infancy period.

Рецензент – проф. Костиленко Ю. П.

Стаття надійшла 04.03.2016 року