

ДИНАМІКА ЩІЛЬНОСТІ РОЗПОДІЛУ ЗАЛИШКІВ α -D-МАНОЗИ В СТРУКТУРАХ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ НОСОВОЇ ЧАСТИНИ ГЛОТКИ ЩУРІВ В ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОПЛІДНОГО ВВЕДЕННЯ АНТИГЕНА

к. мед. н. Матвейшина Т. М.

Україна, м. Запоріжжя, Запорізький державний медичний університет, кафедра анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії

Abstract. On the first day of life in experimental animals, intensity of deposits benzidine mark in cells cytoplasm simple columnar and pseudostratified epithelium of nasopharynx, passageway the rim, slime, secret of goblet cells, the intercellular substance of connective tissue is less in comparison intact animals. Since 3 days of life the content of α -D-manosa residues stay higher in experimental animals compared to control. To 90 days of life the difference in intensity of staining of structures in animals of all studied groups pass away.

According to concept "Lymphocyte – factor of morphogenesis" in antenatal antigene influence leads to premature exit from the thymus immunologically immature T-lymphocytes and their migration in peripheral immune and non-immune organs, including the mucous membrane of the nasopharynx, which leads to a change in the rate of formation the morpho-functional units of local lymphoid system. In turn, these changes affect not only the reactivity of the pharynx, but also changes the composition of the residues of monosaccharides in her fluid and tissue. Changes in density distribution of manosa-specific lectins receptors, may contribute to disruption in the functioning of non-specific immunological barrier and as a consequence, deterioration of adhesion microorganisms containing in their membrane manosa-specific receptors.

Keywords: antenatal antigen influence, flu, rats, pharynx, vaccine.

Вступ. Рівень відтворення населення пов'язаний зі станом здоров'я жінок репродуктивного віку. Високий відсоток серед екстрагенітальної патології вагітних займають інфекційні хвороби. Однак не тільки інфекційне захворювання, а й вакцинація під час вагітності, призводить до збільшення антигенного навантаження на систему мати-плацента-плід, та впливає на морфогенез внутрішніх органів та тканин плода [9]. Згідно чинного наказу МОЗ № 926 від 07.12.2009, під час епідемії грипу, здійснюється вакцинація вагітних жінок для профілактики пандемічного грипу за наявності необхідної кількості вакцини. На отримане внутрішньоутробне антигенне навантаження у плода не виникає повноцінна імунна відповідь, що пов'язано з незрілістю імунної системи, але після народження може проявлятися схильність до розвитку інфекційно-алергічних захворювань, а також розвитком аутоімунних процесів [3]. Екзо- та ендогенні фактори, що впливають на материнський організм під час вагітності, призводять до змін у процесі формування внутрішніх органів, що проявляється дисбалансом чітко детермінованої структури тканини, в основі якого лежить порушення адгезії, міграції, проліферації клітин, міжклітинних та клітинно-матриксних взаємовідносин [5].

Останнім часом питома вага, що припадає на захворювання органів дихання у дітей, невпинно зростає. Особливої важливості серед національних програм збереження здоров'я населення України та профілактичної медицини набуває вивчення патогенезу, поширеності та профілактики захворювань дітей раннього віку. Глотка, а саме носова її частина, зазнає максимального антигенного навантаження та виконує імунорецепторну функцію, суть якої є в ознайомленні лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизовою, з антигенами та заселенні антигенпреміюваними лімфоцитами інших органів [8]. Тому дослідження змін імунореактивності лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизовою носовою частиною глотки, після внутрішньоутробного введення антигена є актуальним питанням.

Метою дослідження стало дослідити динаміку щільності розподілу залишків α -D-манози в структурах слизової оболонки носової частини глотки щурів в постнатальному періоді після внутрішньоутробного введення антигена.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження стали 120 білих лабораторних щурів на 1, 3, 7, 14, 21, 45, 90 добу постнатального життя. Сформовано три групи: I група – інтактні тварини, тваринам II групи на 18-ту добу датованої вагітності внутрішньоплідно введено антиген за методом Волошина М.А. в модифікації (2010), III група – контрольна, тваринам якої на 18-ту добу датованої вагітності введено внутрішньоплідно фізіологічний розчин. Внутрішньоплідно антиген потрапляє за умови порушення в системі мати-плацента-плід, тобто експериментальне інтраопераційне внутрішньоплідне введення антигена є моделлю порушення плацентарного бар'єру при гестозі вагітних. Вірус грипу є тропним до слизової верхніх дихальних шляхів, тому як антиген було обрано спліт-вакцину Ваксигрип для профілактики грипу інактивовану рідку, що містить гемаглютиніни вірусних штамів грипу в сумарній дозі 45 мкг. При роботі з експериментальними тваринами дотримувались міжнародних принципів Хельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації про гуманне ставлення до тварин та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009). Матеріал фіксували у рідині Буена. Гістологічну обробку матеріалу проводили стандартним методом. α -D-маноза є складовою глікопротеїнів слини та секрету дихальних шляхів, тому виявлення її залишків проводили з використанням лектину сочевиці (LCA) за стандартною методикою, з використанням стандартних наборів НПБК «ЛектинТест» (м. Львів). Напівкількісно при імерсійному збільшенні мікроскопа проводили облік результатів реакції з кон'югатами лектину: +++ - темно-коричневе забарвлення, ++ - коричневе забарвлення, + - світло-коричневе забарвлення, - - відсутність реакції.

Результати дослідження. У новонароджених щурів інтактної групи в носовій частині глотки слиз, вміст келихоподібних клітин, посмугована облямівка, внутрішньоцитоплазматичні включення епітеліоцитів одношарового однорядного епітелію, яким вистелена верхня стінка носової частини глотки щурів, та поверхневих і вставкових епітеліоцитів одношарового багаторядного епітелію містять мало рецепторів до лектину сочевиці (+). Дещо більший вміст залишків α -D-манози у внутрішньоцитоплазматичних включеннях базальних епітеліоцитів одношарового багаторядного епітелію, яким вистелені бокові та нижня стінка носової частини глотки щурів (+/++). Інтенсивність забарвлення базальної мембрани та матриксу міжклітинної речовини сполучної тканини не висока (\pm). У експериментальних тварин щільність рецепторів до α -D-манози в описаних структурах слизової носової частини глотки нижче, порівняно з тваринами інтактної групи (\pm /+ в слизу, вмісті келихоподібних клітин, внутрішньоцитоплазматичних включеннях епітеліоцитів одношарового однорядного та вставкових, поверхневих епітеліоцитів одношарового багаторядного епітелію; + - у внутрішньоцитоплазматичних включеннях базальних епітеліоцитів; базальна мембрана та матрикс міжклітинної речовини сполучної тканини не забарвлюються).

На третю добу життя у тварин інтактної групи слиз, посмугована облямівка, внутрішньоцитоплазматичні включення епітеліоцитів одношарового однорядного та одношарового багаторядного епітелію, келихоподібних клітин, базальна мембрана та матрикс міжклітинної речовини сполучної тканини ледь забарвлюється (\pm). У антигенпремійованих тварин щільність розподілу рецепторів до лектину сочевиці в матриксі міжклітинної речовини сполучної тканини підслизової основи вище (+), порівняно з тваринами інтактної групи, а у внутрішньоцитоплазматичних включеннях епітеліоцитів одношарового однорядного та одношарового багаторядного епітелію, секреті келихоподібних клітин та слизу – практично відсутні (-/ \pm), порівняно з контролем.

На сьому добу життя у тварин інтактної групи слиз, секрет келихоподібних клітин, посмугована облямівка, внутрішньоцитоплазматичні включення епітеліоцитів одношарового однорядного та базальних епітеліоцитів одношарового багаторядного епітелію забарвлюються в світло-коричневий колір (+/++), а внутрішньоцитоплазматичні включення поверхневих і вставкових епітеліоцитів одношарового багаторядного епітелію – менш інтенсивно (+). Матрикс міжклітинної речовини сполучної тканини підслизової основи носової частини глотки, а також базальна мембрана забарвлюються у світлий відтінок коричневого кольору (+). У експериментальних тварин щільність залишків α -D-манози в описаних структурах вище, порівняно з тваринами інтактної групи (++).

На чотирнадцяту добу життя у тварин всіх досліджуваних груп в слизу, внутрішньоцитоплазматичних включеннях епітеліоцитів одношарового однорядного та одношарового багаторядного епітелію, посмугованій облямівці практично немає рецепторів до α -D-манози (\pm). Базальна мембрана та матрикс міжклітинної речовини сполучної тканини у тварин інтактної груп забарвлюються у відтінок світло-коричневого кольору (\pm). У тварин, яким

внутрішньоюплідно було введено антиген, щільність рецепторів до лектину сочевиці в описаних структурах, в тому числі LCA⁺-волокнах практично відсутня, порівняно з контролем (-/±).

На двадцять першу добу життя у тварин інтактної групи щільність розподілу рецепторів до лектину сочевиці в слизу, секреті келихоподібних клітин, внутрішньоцитоплазматичних включеннях епітеліоцитів одношарового однорядного, одношарового багаторядного епітеліїв та посмугованій облямівці тварин всіх досліджуваних груп на рівні попереднього терміну спостереження. Базальна мембрана та матрикс міжклітинної речовини сполучної тканини підслизової основи носової частини глотки інтактних тварин практично не забарвлюється, а у експериментальних тварин – ледь забарвлюється. Щільність розподілу рецепторів до лектину сочевиці в структурах антигенпреміюваних тварин вище, порівняно з контролем (+).

Протягом періоду з сорок п'ятої до дев'яностаї доби життя у тварин інтактної групи слизу, вміст келихоподібних клітин, посмугована облямівка, внутрішньоцитоплазматичні включення епітеліоцитів одношарового однорядного та одношарового багаторядного епітеліїв, базальна мембрана та матрикс міжклітинної речовини сполучної тканини підслизової основи практично не забарвлюється (±). У антигенпреміюваних тварин інтенсивність відкладення бензидинової мітки в описаних структурах дещо інтенсивніше, порівняно з контролем (+). На 90 добу життя щільність рецепторів до лектину сочевиці в матриксі міжклітинної речовини сполучної тканини та базальній мембрані у тварини всіх груп не відрізняється між собою.

Таким чином, у тварин інтактної групи найбільша кількість залишків α -D-манози виявлена в клітинній оболонці та у складі внутрішньоцитоплазматичних включень епітеліоцитів одношарового однорядного епітелію і базальних епітеліоцитів одношарового багаторядного епітелію, а також в слизу та секреті келихоподібних клітин. Базальна мембрана та матрикс міжклітинної речовини сполучної тканини ледь забарвлюються. Динаміка вмісту рецепторів до лектину сочевиці має хвилеподібний характер з підвищенням на 7 доби життя з подальшим зниженням. У антигенпреміюваних тварин на першу добу життя інтенсивність відкладення бензидинової мітки в цитоплазмі епітеліоцитів одношарового однорядного та одношарового багаторядного епітелію носової частини глотки, посмугованій облямівці, слизу, секреті келихоподібних клітин, матриксі міжклітинної речовини сполучної тканини менше, порівняно з тваринами інтактної групи. Починаючи з 3 доби життя вміст залишків α -D-манози у експериментальних тварин вище, порівняно з контролем. До 90 доби життя різниця інтенсивності забарвлення структур у тварин всіх досліджуваних груп нівелюється.

Лектин сочевиці є α -D-манозоспецифічним лектином, що преципітує α 2-макроглобулін, IgM та є складовою частиною секрету слизової носової частини глотки [4]. У слизу рецептори до даного лектину виконують функцію опсонізації мікроорганізмів. Зміни щільності розподілу рецепторів до даного лектину в слизу, вмісті келихоподібних клітин та внутрішньоцитоплазматичних включеннях епітеліоцитів одношарового багаторядного та одношарового однорядного епітеліїв після введення антигена внутрішньоюплідно можуть свідчити про зміну показників вродженого імунітету, важливою ланкою якого є секрет слизової та епітеліальний бар'єр носової частини глотки. Концепція «Лімфоцит - фактор морфогенезу» [2] висвітлює, що внутрішньоутробне антигенне навантаження призводить до передчасного виходу з тимуса імунологічно незрілих Т-лімфоцитів і їх міграції в периферичні імунні та неімунні органи, в тому числі в слизову оболонку носової частини глотки [1], що призводить до зміни темпів формування морфо-функціональних одиниць місцевої лімфоїдної системи, а саме збільшенням кількості лімфоцитів, особливо PNA⁺-лімфоцитів, на фоні чого змінюється співвідношення лімфоцитів, клітин з фігурами мітозу та епітеліоцитів, що супроводжується збільшенням вмісту келихоподібних клітин в слизовій носової частини глотки, зміною їх секреторної активності, що було показано низкою попередніх досліджень [1, 6, 7]. У свою чергу ці зміни впливають не тільки на реактивність глотки, а й призводять до зміни складу залишків моносахаридів в її секреті і тканинних структурах. Зміни щільності розподілу рецепторів до манозоспецифічних лектинів, особливо в слизу, можуть сприяти порушенню функціонування неспецифічного імунологічного бар'єру і, як наслідок, погіршення адгезії мікроорганізмів, що містять на своїй мембрані манозоспецифічні вуглеводні залишки.

Висновки. У шурів, яким у внутрішньоутробному періоді було введено антиген внутрішньоюплідно, змінюється щільність розподілу рецепторів до лектину сочевиці в структурах носової частини глотки шурів, особливо у слизу та вмісті келихоподібних клітин, що є проявом порушення неспецифічного імунного бар'єру глотки, що в свою чергу є сприятливим фактором проникнення патогенних мікроорганізмів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Волошин М. А. Динаміка PNA⁺- та SBA⁺-лімфоцитів в слизовій оболонці глотки щурів в постнатальному періоді після внутрішньоутробної дії антигена / М. А. Волошин, Т. М. Матвейшина // Український медичний альманах. – 2012. – Т.15, №5 (додаток). – С. 60-62.
2. Волошин М. А. и др. Лимфоцит – фактор морфогенезу органів // Морфологічні дослідження – виклики сучасності. – 2015. – С. 23-24.
3. Волошин Н. А. и др. Внутриутробное введение антигенов–модель для изучения процессов морфогенеза лимфоидных органов // Таврический медико-биологический вестник. – 2002. – Т. 6. – №. 3. – С. 43-46.
4. Волошин Н. А., Григорьева Е. А. Лектины животного и растительного происхождения: роль в процессах морфогенеза // Теоретична медицина. Журн. АМН України. – 2005. – Т. 11. – №. 2. – С. 223-237.
5. Ковешников В. Г., Бирик Е. Ю. Функциональная морфология органов иммунной системы // Ковешников В. Г., Бирик Е. Ю. –Луганск:«Виртуальная реальность». – 2007.
6. Матвейшина Т. М. Лектинімуногістохімічна характеристика секрету келихоподібних клітин та слизу носової частини глотки щурів як імунобіологічного бар'єру / Т. М. Матвейшина, М. А. Волошин // Актуальні питання медичної науки та практики : зб. наук. пр. ДЗ «ЗМАПО МОЗ України». – Запоріжжя, 2016. – Вип. 83. – Т. 1, кн. 1. – С. 12-19.
7. Матвейшина Т. М., Штанько І. Ф. Вплив внутрішньоутробного антигенного навантаження на інтенсивність розподілу рецепторів до сіалоспецифічних лектинів в структурах слизової глотки щурів //Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – №. 2 (2). – С. 214-219.
8. Сырцов В. К., Волошин Н. А., Алиева Е. Г. Периферические органы иммунной системы //Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – №. 24, № 1. – С. 8-11.
9. Clare B. C. Developing a new paradigm for thymus organogenesis/C. Clare Blackburn, Nancy R. Manley //Nature Review Immunology. – 2004. – Т. 4. – С. 278-289.