ДИНАМІКА КІЛЬКОСТІ МАКРОФАГІВ СЕРЕД КЛІТИН ПІДСЛИЗОВОЇ ОСНОВИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ГЛОТКИ ТА СТРОМИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО ВВЕДЕННЯ АНТИГЕНА

МАТВЄЙШИНА Т.М.

matveishyna_tn@meta.ua

кандидат медичних наук

старший викладач кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії

ГРІНІВЕЦЬКА Н.В.

кандидат медичних наук

асистент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії

Запорізький державний медичний університет

м. Запоріжжя, Україна

Вступ. Вивчення імунного комплексу повітроносних шляхів та травного тракту в контексті внутрішньоутробного антигенного навантаження плода є актуальним у зв'язку з запитами сучасної медицини та біології через збільшення питомої ваги інфекційно-алергічних захворювань новонароджених. Даний факт зумовлений не тільки підвищенням агресивності зовнішнього середовища, що веде до збільшення навантаження на імунну систему організму пре- та постнатальному періодах розвитку, а й зниженням імунологічної реактивності населення в цілому [4, с. 23-24].

Слабкість первинної імунної відповіді імунної системи доношених новонароджених виникає в результаті перенесеного антенатального антигенного навантаження будь-яким агентом, а саме вірусом грипу, що сприяє розвитку патологічних станів, пов'язаних із вторинним інфікуванням [2, с. 112-113]. Вакцинація вагітних жінок, що проводиться згідно чинного наказу №926 від 07.12.2009 для профілактики пандемічного грипу за наявності необхідної

кількості вакцини, підвищує антигенне навантаження на материнський організм та, як наслідок, з'являється ризик виникнення антигенної дії на плід, тому вивчення закономірностей розвитку внутрішніх органів плода саме після внутрішньоутробного введення інактивованої грипозної вакцини набуває особливо акцентуйованого значення. Необхідно підкреслити важливість вивчення реакції дихальних шляхів на введення інактивованої грипозної вакцини саме через тропність цього вірусу до слизової оболонки глотки, яка є унікальним органом імунорецепції та знаходиться на перехресті дихальних та травних шляхів.

В літературі є дані стосовно дії вірусного антигену, введеного в антенатальному періоді розвитку, на ацинарні клітини та острівці підшлункової залози. В якості антигену виступали різні віруси: паротиту, Коксакі, вірусу герпесу [5, с. 127-128]. Водночас даних щодо розвитку та реактивності сполучної тканини підшлункової залози в умовах пренатального антигенного навантаження, недостатньо [3, с. 58-59].

Важливою ланкою неспецифічного імунітету є макрофаги. На клітинній мембрані, а також внутрішньо цитоплазматичні включення цих антигенпрезентуючих клітин містять велику кількість різноманітних вуглеводних залишків, у тому числі залишків β-D-галактози, виявлення яких можна провести з використанням лектину арахісу (PNA) [1, с. 84].

Мета. Встановити динаміку кількості макрофагів в підслизовій основі слизової оболонки носової, ротової частин глотки та сполучній тканині підшлункової залози щурів в постнатальному періоді після внутрішньоутробного введення антигена.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктом дослідження стали 178 білих лабораторних щурів (постачальник щурів «Біомодельсервіс» (м. Київ)) на 1, 3, 7, 14, 21, 45, 90 добу постнатального життя. 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» (N 1759-VI від

15.12.2009). Догляд за щурами здійснювали відповідно до норм та вимог, розроблених згідно з кодексом Ради Міжнародних медичних організацій «Міжнародні рекомендації для проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин». Тварини поділені на чотири групи: перша група – інтактні, тваринам другої групи на 18-ту добу датованої вагітності внутрішньоплідно введено антиген [6], тваринам третьої групи на 18-ту добу датованої вагітності введено антиген в навколоплідні води [7]. Контролем були тварини четвертої групи, яким на 18-ту добу датованої вагітності введено внутрішньоплідно фізіологічний розчин. Тварин виводили з експерименту дотримуючись наказу «Про заходи по подальшому вдосконаленню організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин». В якості антигену було використано спліт-вакцину Ваксігрип для профілактики грипу інактивовану рідку, що містить гемаглютиніни вірусних штамів грипу в сумарній дозі 45 мкг. Матеріал фіксували у рідині Буена. Гістологічну обробку матеріалу проводили стандартним методом. Виявлення вуглеводних залишків β-D-галактози проводили з використанням лектину арахісу (PNA) за стандартною методикою, з використанням стандартних наборів НПВК „ЛектинТест” (м. Львів). За допомогою кількісно-візуального метода С.Б. Стефанова з використанням модифікованої сітки Автанділова проводили підрахунок PNA^+-макрофагів в підслизовій основі слизової оболонки носової та ротової частин глотки та сполучній тканині підшлункової залози щурів на умовній одиниці площі 5000 $мкм^2$ (об.100, ок. 10) Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням програми STATISTICA 6.1 та вважали статистично вірогідними, якщо $p \leq 0,05$. Різницю між двома середніми оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента-Фішера.

Отримані результати та їх обговорення. Макрофаги, що містять на своїй мембрані залишки β-D-галактози, дифузно розташовані серед клітин сполучної тканини, якою представлена підслизова основа слизової оболонки носової та ротової частин глотки, а також дифузно розташовані серед клітин строми підшлункової залози щурів.

Аналізуючи розподіл макрофагів серед клітин підслизової основи носової частини глотки виявлено, що на першу добу життя вміст макрофагів незначний та становить 0,6±0,08 на у.о. У тварин, яким внутрішньоутробно введено антиген, не спостерігається змін кількості макрофагів (0,7±0,11 на у.о. та 0,6±0,11 на у.о., відповідно у тварин, яким антиген введено внутрішньоплідно та в навколоплідні води). Протягом всіх періодів спостереження показники тварин інтактної та контрольної груп не мають статистично вірогідної різниці. На 3 добу життя у тварин, яким антиген введено в навколоплідні води, виявлено статистично вірогідне збільшення вмісту макрофагів серед клітин підслизової основи носової частини глотки (1,3±0,11 на у.о.) порівняно з контролем (0,7±0,11 на у.о.). Результат отриманий у тварин, яким антиген було введено внутрішньоплідно (0,8±0,21 на у.о.), незначно відрізняється від контролю. На 7 добу життя вміст макрофагів статистично вірогідно збільшується у тварин обох експериментальних груп (1,3±0,05 на у.о. та 1,3±0,24 на у.о. відповідно у тварин II та III груп) порівняно з контролем (1,0±0,12 на у.о.). На 14 добу життя вміст макрофагів у тварин інтактної групи статистично вірогідно збільшується порівняно з попереднім строком спостереження та становить 1,4±0,08 на у.о. У тварин, яким внутрішньоутробно введено антиген, спостерігається статистично вірогідне збільшення вмісту макрофагів серед клітин підслизової основи носової частини глотки у порівнянні з контролем, а також у порівнянні з попереднім строком спостереження (1,8±0,2 на у.о. та 1,6±0,11 на у.о. у тварин II та III груп відповідно). На 21 добу життя спостерігається тенденція до зменшення числа макрофагів у тварин всіх досліджуваних груп порівняно з попереднім терміном спостереження. Статистично вірогідно різниці між показниками тварин всіх досліджуваних груп немає. На 45 добу життя у тварин інтактної групи вміст макрофагів збільшується (2,1±0,09 на у.о.), а на 90 добу життя зменшується (1,1±0,1 на у.о.), результати статистично вірогідні відносно попереднього терміну спостереження. Протягом періоду 21 – 45 доби життя статистично вірогідних відмінностей між показниками тварин інтактної та

експериментальних груп немає. Однак на 90 добу життя вміст макрофагів у тварин, яким антиген введено внутрішньоплідно, статистично вірогідно збільшений (1,6±0,08 на у.о.) порівняно з тваринами контрольної групи (1,1±0,1 на у.о.). У тварин, яким антиген введено в навколоплідні води, результат статистично вірогідно не відрізняється від контролю та становить 1,1±0,12 на у.о.

Аналізуючи розподіл макрофагів серед клітин підслизової основи ротової частини глотки виявлено, що у новонароджених тварин інтактної, контрольної та експериментальних груп кількість макрофагів практично не відрізняється та становить 2±0,09, 2,2±0,24 та 2,2±0,12 на у.о. (у тварин I, II та III груп відповідно). Статистично вірогідної різниці між показниками тварин інтактної та контрольної груп протягом всього періоду спостереження не виявлено. З першої до 14 доби життя вміст макрофагів у тварин всіх досліджуваних груп має тенденцію до поступового збільшення та становить 3±0,27 на у.о. у тварин контрольної групи та 2,8±0,2 та 2,8±0,56 на у.о. відповідно у тварин, яким антиген ввели внутрішньоплідно та в навколоплідні води. Відносне плато зберігається до 21 доби життя серед показників тварин всіх досліджуваних груп. А починаючи з 45 до 90 доби життя вміст макрофагів поступово зменшується у всіх групах спостереження. Протягом всіх досліджуваних термінів статистично вірогідної різниці між показниками інтактної, контрольної а також обох експериментальних груп не виявлено. Також не виявлено статистично вірогідної різниці між вмістом макрофагів в підслизовій основі ротової частини глотки у тварин, яким антиген було введено внутрішньоплідно та в навколоплідні води.

Серед клітин сполучної тканини підшлункової залози у новонароджених тварин макрофаги складають в інтактній групі 1,19±0,19 на у.о., а в експериментальних групах 1,23±0,12 на у.о. та 1,20±0,13 на у.о. відповідно. На 3 добу життя абсолютна кількість макрофагів в інтактній групі тварин дещо зростає щодо першої доби життя. В експериментальних групах кількість цих клітин практично не відрізняється від контролю спостереження (1,17±0,12 на у.о. у

тварин, яким антиген введено внутрішньоплідно, 1,20±0,14 на у.о. у тварин, яким антиген введено в навколоплідні води проти 1,25±0,11 на у.о. у тварин контрольної групи). Вміст макрофагів дещо зростає до 7 доби життя, а починаючи з 14 доби життя коливання вмісту макрофагів стають незначними. Протягом всіх термінів спостереження статистично вірогідної різниці між показниками тварин інтактної та експериментальних груп, інтактної та контрольної, а також показниками експериментальних груп не виявлено.

Таким чином, у тварин, яким введено антиген в навколоплідні води, спостерігається статистично вірогідне збільшення кількості макрофагів серед клітин підслизової основи носової частини глотки з 3 до 14 доби життя. У тварин, яким антиген введено внутрішньоплідно, статистично вірогідне збільшення макрофагів серед клітин підслизової основи носової частини глотки спостерігається з 7 до 14 доби життя та на 90 добу життя. Статистично вірогідного збільшення макрофагів серед клітин підслизової основи ротової частини глотки та строми підшлункової залози у тварин, яким внутрішньоутробно введено антиген, не виявлено.

Висновки. Динаміка кількості макрофагів серед клітин підслизової основи носової та ротової частин глотки, а також строми підшлункової залози, має хвилеподібний характер. У тварин, яким внутрішньоутробно введено антиген, визначене статистично вірогідне збільшення кількості макрофагів серед клітин підслизової основи слизової носової частини глотки, порівняно з тваринами інтактної групи. Водночас внутрішньоутробне введення антигена, незалежно від способу введення, не впливає на вміст макрофагів серед клітин підслизової основи слизової ротової частини глотки та строми підшлункової залози.

Використана література:

1. Білаш С.М. Лектингістохімічна характеристика клітинних елементів еритробластного острівця червоного кісткового мозку у щурів при введенні кріоконсервованої плаценти / Білаш С.М., Борута Н.В., Старченко І.І. // Світ медицини та біології. – 2017. – №3(61). – С. 83-85.

2. Волошин М. А. Внутрішньоутробна дія антигена як фактор, що сприяє розвитку алергічно-інфекційних захворювань у новонароджених / Волошин М. А., Матвєйшина Т. М. // Вісник наук. дослідж. – 2012. – № 3. – С. 111-114.
3. Волошин М. А. Динаміка співвідношення структур підшлункової залози в нормі та після внутрішньоплідного введення антигенів вірусної природи / М. А. Волошин, Н. В. Грінівецька // Український медичний альманах . – 2012. – Т. 15. № 5. – С.57–60.
4. Волошин М.А. та ін. Лімфоцит – фактор морфогенезу органів // Морфолгічні дослідження – виклики сучасності. – 2015. – С. 23-24.
5. Медведев А. Е. Изменение структуры поджелудочной железы новорожденных крыс после внутриплодного введения чужеродных антигенов / А. Е. Медведев // Укр. мед. альманах. – 2000. – Т. 3, № 5. – С. 126–129.
6. Пат. 49377 Україна, МПК (2009) A61P 37/00. Спосіб моделювання внутрішньоплідної дії антигенів / Волошин М.А., Федотченко А.В., Матвєйшина Т.М.; заявник та патентовласник Запорізьк. державн. медичний ун-т. –№u200911825; заявл. 19.11.2009; опубл. 26.04.2010, Бюл. №8.
7. Пат. 63020 Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання внутрішньоплідної дії антигенів / Волошин М. А., Матвєйшина Т. М., Грінівецька Н. В., Бурега Ю. О., Таланова О. С.; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № 2011 02218; заявл. 25.02.11 ; опубл. 26.09.11, Бюл. № 18.