

УДК 611.37:577.112.85]+616-097]:612-092.9:599.323.4

Н.В. Грінівецька

Запорізький державний медичний університет

РОЗПОДІЛ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНІВ У СПОЛУЧНОТКАНИННІЙ СТРОМІ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ НОВОНАРОДЖЕНИХ ЩУРІВ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ ДІЇ АНТИГЕНІВ

Досліджували розподіл глікозаміногліканів у капсулі, міждольковій та внутрішньодольковій сполучній тканині та судинах підшлункової залози протягом трьох місяців життя в нормі та в умовах антигенного навантаження. Показано, що розподіл глікозаміногліканів у сполучній тканині в якійсь мірі відображає процес її функціонального становлення та динамічно змінюється з 1-ї по 14-ту добу життя. Хвилеподібні зміни інтенсивності накопичення альціанофільних сполук виникають у більшості випадків за рахунок гіалуронової кислоти. Внутрішньоутробне введення антигену призводить до збільшення глікозаміногліканів з 1-ї по 3-тю добу життя та зниження на 7-му та 14-ту добу. Це може вплинути на темпи формування (становлення) сполучної тканини, а також на її властивості.

Ключові слова: підшлункова залоза, сполучнотканинна структура, гіалуронова кислота.

В об'єднанні окремих структурно-функціональних елементів у цілісну систему органа велике значення має сполучнотканинна строма, яка є своєрідною в кожному органі. Сполучна тканина підшлункової залози та її волокнисті компоненти не тільки обмежують головні морфологічні структури – часточки, а й являються невід'ємною частиною стінок вивідних протоків [1]. В забезпеченні трофічної функції сполучної тканини важливу роль відіграють глікозаміноглікани, які здійснюють транспорт води, амінокислот, ліпідів, приймають участь практично в усіх процесах обміну сполучної тканини, а також чинять модулюючий вплив на диференціювання клітин [2]. Гіалуронова кислота, яка відноситься до несulfатованих глікозаміногліканів, забезпечує процеси міграції та проліферації клітин, взаємодію з поверхневими рецепторами клітин. Порушення морфогенезу внутрішніх органів плоду, що проявляється дисбалансом чітко детермінованої просторової структури тканини, зумовлені різноманітними факторами, що впливають на материнський організм під час вагітності. Як відомо, внутрішньоутробне введення антигенів призводить до змін у складі сполучної тканини в органах новонароджених [2, 3]. Однак розподіл глікозаміногліканів у

сполучній тканині підшлункової залози в нормі та в умовах антигенного навантаження вивчено недостатньо.

Мета дослідження – встановити особливості розподілу глікозаміногліканів у сполучній тканині підшлункової залози протягом трьох місяців життя в нормі та після внутрішньоутробної дії антигенів.

Матеріал і методи. Досліджено підшлункову залозу лабораторних щурів лінії Вістар чотирьох груп: 1-ша група – інтактні щури; 2-га (контрольна) – щури, яким внутрішньоплідно вводили ізотонічний розчин натрію хлориду; 3-тя (експериментальна ЕІ) – тварини, яким внутрішньоплідно вводили вакцину Ваксигрип за методом М.А. Волошина, та 4-та (експериментальна ЕІІ) – тварини, яким вводили вакцину Ваксигрип у навколоплідні води. Забій тварин здійснювали на 1, 3, 7 та 14-ту добу життя шляхом декапітації з 13.00 до 14.00. Матеріал фіксували в рідині Буена, зневоднювали, заливали у парафінову суміш та виготовляли гістологічні зрізи. Весь комплекс глікозаміногліканів виявляли на гістологічних зрізах, які забарвлювали розчином альціанового синього при рН 2,6 з критичною концентрацією хлористого магнію ($MgCl_2$) 0,2М; наявність гіалуронової кислоти оцінювалася після

© Н.В. Грінівецька, 2014

попередньої обробки зрізів тестикулярною гіалуронідазою; для диференціювання сульфатованих сполук гістологічні зрізи забарвлювали розчином альціанового синього з критичною концентрацією хлористого магнію 0,6М. Досліджували розподіл глікозаміногліканів у капсулі, міждольковій і внутрішньодольковій сполучній тканині та судинах. Результати обчислювали напівкількісно: +++ – синє (бірюзове) забарвлення, ++ – блакитне, + – блідо-блакитне, — – відсутність забарвлення.

Результати. На 1-шу добу післянатального життя у тварин інтактної та контрольної груп підшлункова залоза має тонку сполучнотканинну капсулу, яка при забарвленні альціановим синім з критичною концентрацією хлориду магнію 0,2М набуває проміжного відтінку від синього до блакитного (+++/++). Міждолькова сполучна тканина має блакитне забарвлення (++) , поділяє паренхіму на часточки й представлена волокнами, клітинами та екстрацелюлярним матриксом. Волокна тонкі, звивисті, найбільш зосереджені біля кровоносних судин і протоків. Серед клітин зустрічаються фібробласти, фіброцити, макрофаги та поодинокі лімфоцити, розташовані біля кровоносних судин. Внутрішньодолькова сполучна тканина розвинена слабкіше, волокна її найбільш тонкі, при забарвленні набувають проміжного відтінку від блідо-блакитного до блакитного (+/+++). Стінка кровоносних судин, розташованих у сполучнотканинній стромі, має блакитне забарвлення (++).

Після забарвлення зрізів підшлункової залози альціановим синім із критичною концентрацією хлориду магнію 0,6М спостерігається зниження інтенсивності забарвлення в усіх названих структурах: капсула, міждолькова сполучна тканина та судини блакитного кольору (++) , внутрішньодолькова сполучна тканина блідо-блакитного кольору (+) , що вказує на вміст сульфатованих глікозаміногліканів у волокнах сполучної тканини.

Після попередньої обробки гістологічних зрізів тестикулярною гіалуронідазою інтенсивність забарвлення різко знижується, усі структури мають блідо-блакитне забарвлення (+) , що підтверджує (вказує) значний вміст гіалуронової кислоти в структурах сполучнотканинного комплексу.

В обох експериментальних групах тварин 1-ї доби життя, яким вводили вакцину Вак-

сигрипу внутрішньоплідно та в навколоплідні води, спостерігаються відмінності в інтенсивності забарвлення структур сполучної тканини в порівнянні з такою інтактних і контрольних тварин. Збільшується інтенсивність забарвлення волокон в капсулі (+++), волокна капсули та міждолькової сполучної тканини декілька потовщені у порівнянні з такими щурів інтактної і контрольної груп. Міждолькова сполучна тканина набуває проміжного відтінку (+++/+++), а внутрішньодолькова сполучна тканина блакитного кольору (++) . Стінка судин в експериментальних групах тварин залишається блакитного кольору (++) .

Після забарвлення гістологічних зрізів тварин експериментальної групи альціановим синім з критичною концентрацією хлориду магнію 0,6М виявляється збільшення інтенсивності забарвлення волокон капсули й міждолькової сполучної тканини (++) у порівнянні з даними, виявленими в контрольній та інтактній групах, що вказує на більший вміст сульфатованих глікозаміногліканів у перерахованих структурах підшлункової залози у інтактних і контрольних тварин.

Після обробки гістологічних зрізів підшлункової залози щурів експериментальної групи тестикулярною гіалуронідазою відмічається рівномірне зниження інтенсивності забарвлення у порівнянні з даними контрольної та інтактної груп тварин.

На 3-тю добу життя волокна сполучної тканини капсули й міждолькової сполучної тканини у інтактних і контрольних щурів при забарвленні альціановим синім з критичною концентрацією хлориду магнію 0,2М набувають проміжний відтінок від синього до блакитного (+++/+++), як і у новонароджених тварин. Інтенсивність забарвлення внутрішньодолькової сполучної тканини та стінок кровоносних судин залишається на рівні 1-ї доби життя. При забарвленні альціановим синім з концентрацією хлориду магнію 0,6М інтенсивність забарвлення усіх структур рівномірно зменшується, найбільш інтенсивно (++) забарвлюються волокна капсули, міждолькової сполучної тканини, стінки кровоносних судин (таблиця). Ферментативний контроль тестикулярною гіалуронідазою доводить зменшення інтенсивності забарвлення до блідо-блакитного кольору в усіх досліджуваних структурах (таблиця).

Розподіл глікозаміногліканів у структурах підшлункової залози щурів

Група	конц. MgCl ₂	1-ша доба				3-тя доба			
		капсула	С.Т. М.Д.	СТВ.Д.	сосуди	капсула	С.Т. М.Д.	СТВ.Д.	сосуди
Інтактна	А.С. 0,2М	+++/>++	++	+/>++	++	+++/>++	++/>+++	+/>++	++
	А.С. 0,6М	++	++	+	++	++/>+	++	+	++/>+
	Т.Г.	+	+	+	+	+	+	+/>-	+
Контрольна	А.С. 0,2М	+++/>++	++	+	++	+++/>++	+++	++/>+	++
	А.С. 0,6М	++	++	+	++	++/>+	++	+	++/>+
	Т.Г.	+	+	+	+	+	+	+	+
Експерим. 1	А.С. 0,2М	+++	++/>+++	++	++	+++	++/>+++	++	++
	А.С. 0,6М	++	++	++/>+	++/>+	++	++	++/>+	++/>+
	Т.Г.	+	+	+	+	+	+	+	+
Експерим. 2	А.С. 0,2М	+++	+++/>++	++	++	+++	+++/>++	++	++
	А.С. 0,6М	++	++	++/>+	++/>+	++	++	++/>+	++/>+

Примітка. +++ – синє (бірюзове) забарвлення; ++ – блакитне; + – блідо-блакитне;

У антигенпреміюваних тварин на препаратах підшлункової залози, які були забарвлені альціановим синім з критичною концентрацією хлориду магнію 0,2М, капсула була синього кольору (+++) в обох досліджуваних групах, що може свідчити про незначне збільшення вмісту глікозаміногліканів у порівнянні з інтактними і контрольними тваринами. Волокна міждолькової сполучної тканини набувають проміжного відтінку від блакитного до синього (++/+++) у тварин, яким антиген було введено внутрішньоплідно. У щурів, яким вакцину вводили у навколоплідні води, інтенсивність забарвлення була декілька більшою (+++/>++). Внутрішньодолькова сполучна тканина, розділяючи ацинуси, незначно потовщується в обох експериментальних групах у порівнянні з інтактною і контрольною групами та експериментальними групами тварин 1-ї доби життя і набуває блакитного кольору (++) , що теж відображає збільшений вміст альціанофільних сполук у експериментальних тварин у порівнянні з інтактними. В стінках судин кількість глікозаміногліканів за-

лишається на рівні інтактною та контрольною груп щурів, (++) блакитного кольору.

Інтенсивність забарвлення внутрішньодолькової сполучної тканини експериментальних тварин альціановим синім з критичною концентрацією хлориду магнію 0,6М збільшується у порівнянні з контрольною групою (++ та + відповідно), що вказує на збільшення синтезу і накопичення сульфатованих глікозаміногліканів у цих структурах після введення антигену.

В обох експериментальних групах щурів, як і в контрольній групі, в гістологічних зрізах, забарвлених альціановим синім з критичною концентрацією хлориду магнію 0,6М, спостерігається зменшення інтенсивності забарвлення сполучнотканинних волокон стінки кровосносних судин, капсули, міждолькових перегородок підшлункової залози.

Після обробки зрізів тестикулярною гіалуронідазою відбувається рівномірне зниження інтенсивності забарвлення волокон капсули та судин, міждолькових та внутрішньодоль-

після внутрішньоутробного введення антигенів

7-ма доба				14-та доба			
капсула	С.Т. М.Д.	СТ.В.Д.	сосуди	капсула	С.Т. М.Д.	СТ.В.Д.	сосуди
++/+++	++	++/+	++/+	++/+++	++	++/+	++/+
++	++	+/>++	+/>++	++	++	+/>++	+/>++
+/>++	+	+	+	+/>++	+	+	+
++/+++	++	++/+	++/+	++/+++	++	++/+	++/+
++	++	++	+/>++	++	++	+/>++	+/>++
+/>++	+	+	+	+/>++	+	+	+
++/+	++	+/>++	+/>++	++/+	++/+	+/>++	+/>++
+/>++	+/>++	+	+	+/>++	+/>++	+	+
+	+	+/>-	+/>-	+	+	+/>-	+
++	++	+/>++	+/>++	++	++	+/>++	+/>++
+/>++	+/>++	+	+	+/>++	+/>++	+	+

— — відсутність забарвлення.

кових сполучнотканинних перегородок, вони набувають блідо-блакитного кольору (+), як і в контрольній групі.

На 7-му добу життя відносна площа, яку займає сполучна тканина, зменшується впродовж грудного періоду годування в інтактній та контрольній групах тварин [8]. Сполучнотканинні утворення накопичують меншу кількість глікозаміногліканів, ніж на 1-шу та 3-тю добу життя. На препаратах підшлункової залози, які забарвлювали альціановим синім з критичною концентрацією хлориду магнію 0,2М, капсула має проміжний відтінок від блакитного до синього (++/+++). Міждолькова сполучна тканина блакитного кольору (++) , внутрішньодолькова сполучна тканина має проміжний відтінок від блакитного до блідо-блакитного (++/+). Стінка кровоносних судин має проміжний відтінок від блакитного до блідо-блакитного (++/+).

На зрізах підшлункової залози, забарвлених альціановим синім з концентрацією хлориду магнію 0,6М, інтенсивність забарвлення

рівномірно зменшується в капсулі (++) , судинах (+/>++), міждольковій (+/>++) та внутрішньодольковій (+/>++) сполучній тканині.

Після обробки гістологічних зрізів тестиккулярною гіалуронідазою інтенсивність забарвлення рівномірно зменшується, структури набувають блідо-блакитного забарвлення (+).

В обох експериментальних групах тварин 7-ї доби життя загальна кількість альціанофільних сполук на препаратах, забарвлених альціановим синім з критичною концентрацією 0,2М, в сполучнотканинних структурах зменшується. Капсула має блакитний колір (++) , міждолькова сполучна тканина експериментальної групи ЕІ має проміжний відтінок від блакитного до блідо-блакитного (++/+), внутрішньодолькова сполучна тканина – від блідо-блакитного до блакитного (+/>++), судини також мають знижену інтенсивність забарвлення. В міждольковій сполучній тканині експериментальної групи ЕІІ кількість глікозаміногліканів не збільшується порівняно з їх кількістю в інтактній та контрольній групах.

Вміст сульфатованих глікозаміногліканів в експериментальній групі тварин в капсулі і внутрішньодольковій сполучній тканині менша, ніж у інтактних тварин цього терміну спостереження, у міждольковій сполучній тканині кількість альціанофільних сполук залишається на одному рівні з такою у інтактних і контрольних щурів.

Після постановки гіалуронідазного контролю у експериментальних тварин структури сполучної тканини знебарвлюються інтенсивніше, ніж у інтактних тварин (таблиця).

На 14-ту добу життя при зміні типу годування на змішаний екзокринна частина збільшується внаслідок утворення нових ацинусів, а кількість стромального компонента зменшується, і це супроводжується зменшеним вмістом глікозаміногліканів у капсулі, міждольковій та внутрішньодольковій сполучній тканині. Вміст сульфатованих глікозаміногліканів і гіалуронової кислоти в усіх досліджуваних структурах залишається на рівні попереднього терміну спостереження (таблиця).

В групі антигенгіперемованих тварин при збільшенні відносної площі сполучної тканини спостерігається зниження загальної кількості альціанових сполук в капсулі, міждольковій та внутрішньодольковій сполучній тканині, а також в судинах (таблиця) Сульфатовані глікозаміноглікани та гіалуронова кислота кількісно знаходяться на рівні 7-ї доби спостереження щурів експериментальної групи.

Обговорення результатів. Розподіл і склад глікозаміногліканів сполучної тканини підшлункової залози відображають ступінь її диференціювання і функціональної активності [4–10]. Максимальна кількість альціанових сполук в сполучній тканині підшлункової залози виявлена в капсулі на 1-шу та 3-тю добу життя, міждолькова і внутрішньодолькова сполучна тканина та судини мають меншу кількість глікозаміногліканів у цей термін.

Починаючи з 7-ї доби після народження в сполучнотканинних структурах підшлункової залози, особливо в капсулі, контрольної та інтактної груп тварин спостерігається збільшення гіалуронідазостабільних сполук; в експериментальних групах тварин цей процес проявляється у меншому ступені, що, можливо, пов'язано з набряком тканини залози, на що також вказує збільшення гіалуронідазолабільних сполук у складі внутрішньодолькової сполучної тканини, у порівнянні з контрольними та інтактними тваринами.

Отже, у тварин після введення антигену з 7-ї по 14-ту добу після народження спостерігається зменшення вмісту глікозаміногліканів у стромі підшлункової залози у порівнянні з контрольною та інтактною групами тварин, що, можливо, пов'язано з відставанням синтезу сульфатованих глікозаміногліканів.

Висновки

Розподіл глікозаміногліканів у сполучній тканині підшлункової залози в якійсь мірі відображає процес її функціонального становлення та динамічно змінюється з 1-ї по 14-ту добу життя. Хвилеподібні зміни інтенсивності накопичення альціанофільних сполук виникають у більшості випадків за рахунок гіалуронової кислоти.

Внутрішньоутробне введення антигену призводить до збільшення глікозаміногліканів з 1-ї по 3-тю добу життя та зниження на 7-му та 14-ту добу. Це може вплинути на темпи формування (становлення) сполучної тканини, а також на її властивості.

Перспективи подальших досліджень. Планується вивчити динаміку змін клітинного і лімфоцитарного складу сполучної тканини та екзокринної частини підшлункової залози, що дозволить описати реактивність підшлункової залози в умовах антигенного навантаження.

Література

1. Шаповалова Е.Ю. Закономерности появления и локализации коллагенов I, II, III и IV типов в раннем эмбриогенезе поджелудочной железы у человека при типической имплантации / Е. Ю. Шаповалова, Н. И. Майструк, И. А. Демяненко // Світ медицини та біології. – 2009. – № 3. – С. 119–122.
2. Авцын А.П. Принципы и методы гистохимического анализа в патологии / А. П. Авцын, А.И. Струков, Б.Б. Фукс. – Л.: Медицина, 1971. – 368 с.

3. Гістохімічні методи дослідження екстрацелюлярного матриксу сполучної тканини / М.М. Багрій, М.В. Демянчук, І.В. Мельник [та ін.] // Вісник проблем біології та медицини. – 2011. – Т. 1, вип. 2. – С. 248–25.
4. Федотченко А.В. Особливості розподілу глікозаміногліканів в капсулі суглоба у щурів протягом перших трьох місяців життя в нормі та після антенатальної дії антигенів / А.В. Федотченко // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т. 9, № 3 (додаток). – С. 64–66.
5. Волошин Н.А. Лимфоцит – фактор морфогенеза / Н.А. Волошин // Запорожский медицинский журнал. – 2005. – № 5. – С. 123.
6. Роль імунної системи в дизрегуляції морфогенетичних процесів ембріо- та фетогенезу / В.Ф. Мислицький, С.С. Ткачук, О.В. Ткачук [та ін.] // Клінічна та експериментальна патологія. – 2011. – Т. X, № 4 (38). – С. 113–116.
7. Волошин М.А. Динаміка співвідношення структур підшлункової залози в нормі та після внутрішньооплідного введення антигенів вірусної природи / М.А. Волошин, Н.В. Грінівецька // Український медичний альманах. – 2012. – Т. 15, № 5 (додаток). – С. 57–60.
8. Грінівецька Н.В. Особливості розподілу глікопротеїнів в структурах підшлункової залози з 1-ї до 90-ї доби життя після антенатального антигенного впливу / Н. В. Грінівецька // Морфологія. – 2014. – Т. 8, № 1. – С. 31–33.
9. Ивановская Т.Е. Морфология лимфоидной системы в перинатальном периоде при антигенном воздействии / Т.Е. Ивановская, Л.Е. Кокшунева // Архив патологии. – 1979. – № 10. – С. 43–44.
10. Gittes G. K. Lineage – specific morphogenesis in the developing pancreas :role of mesenchymal factors / G.K. Gittes, P.E. Galante, D. Hanahan // Development. – 1996. – Vol. 122. – P. 439–447.

Н.В. Гринивецкая

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ В СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОЙ СТРОМЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС В НОРМЕ И ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИГЕНОВ

Исследовали распределение гликозаминогликанов в капсуле, междольковой и внутридольковой соединительной ткани и сосудах поджелудочной железы в течение трех месяцев жизни в норме и в условиях антигенной нагрузки. Показано, что распределение гликозаминогликанов в соединительной ткани в какой-то мере отражает процесс ее функционального становления и динамично изменяется с 1-х по 14-е сутки жизни. Волнообразные изменения интенсивности накопления альцианофильных соединений возникают в большинстве случаев за счет гиалуроновой кислоты. Внутриутробное введение антигена приводит к увеличению гликозаминогликанов с 1-х по 3-и сутки жизни и снижению на 7-е и 14-е сутки. Это может повлиять на темпы формирования (становления) соединительной ткани, а также на ее особенности.

Ключевые слова: поджелудочная железа, соединительнотканная структура, гиалуроновая кислота.

N.V. Griniveckaya

GLYCOSAMINOGLYCAN ALLOCATION IN THE CONNECTIVE TISSUE STROMA OF NEWBORN RAT'S PANCREAS UNDER NORMAL CONDITIONS AND AFTER FETAL ANTIGENS ACTIONS

Determine the features of glycosaminoglycan allocation in the pancreas connective tissue within three months of life under normal conditions and after fetal antigens actions. Allocation of glycosaminoglycans in the pancreas connective tissue dynamically changes from 1st till 14th day of life and to some extent reflect the process of its functional formation. Undulating intensity changes of the alcianophilic compounds accumulation generally occur at the expense of hyaluronic acid. Fetal antigen administration leads to an increase of glycosaminoglycans from 1st till 3rd day of life, and the decrease from 7th and 14th day. This may affect the rate of formation of the connective tissue and its properties.

Key words: pancreas, connective structure, hyaluronic acid.

Поступила 18.07.14