

РОЗПОДІЛ РЕЦЕПТОРІВ ДО ЛЕКТИНУ ПШЕНИЦІ В СТІНЦІ ДВАНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ НОВОНАРОДЖЕНИХ ЩУРІВ В РАНЬОМУ ПІСЛЯНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ У НОРМІ, ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОПЛІДНОГО ВВЕДЕННЯ АНТИГЕНУ

Лазарик О.Л.

Запорізький державний медичний університет.

Лазарик О.А. Розподіл рецепторів до лектину пшениці в стінці дванадцятипалої кишки новонароджених щурів в ранньому післянатальному онтогенезі у нормі, та після внутрішньо плідного введення антигену // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 162-165.

У статті вивчено розподіл рецепторів до лектину арахісу в структурах дванадцятипалої кишки білих щурів лінії Вістар від перших до шістдесятих діб після народження. Показана вікова динаміка збільшення рецепторів до лектину пшениці у слизовій оболонці і підслизистій основі проксимального і дистального відділів дванадцятипалої кишки. Виявлено зміни динаміки складу рецепторів до лектину пшениці в дванадцятипалій кишці після введення щурам антигену у внутрішньоутробному періоді.

Ключові слова: дванадцятипала кишка, рецептори до лектину пшениці, новонароджені щури, гаммаглобулін.

Лазарик А.А. Распределение рецепторов к лектину пшеницы в стенке двенадцатиперстной кишки новорожденных крыс в раннем постнатальном онтогенезе и после внутриутробного введения антигена // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 162-165.

В статье изучено распределение рецепторов к лектину арахиса в структурах двенадцатиперстной кишки белых крыс линии Вистар от первых до шестидесятих суток после рождения. Показана возрастная динамика увеличения рецепторов к лектину пшеницы в слизистой оболочке и подслизистой основе проксимального и дистального отделов двенадцатиперстной кишки. Выявлены изменения динамики состава рецепторов к лектину пшеницы в двенадцатиперстной кишке после введения крысам антигена во внутриутробном периоде.

Ключевые слова: двенадцатиперстная кишка, рецепторы к лектину пшеницы, новорожденные крысы, гаммаглобулин.

Lazarik A.L. The distribution of receptors for the lectin wheat in the duodenal wall of newborn rats in early postnatal ontogenesis and after intrauterine injection of antigen // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 162-165.

This article studied the distribution of receptors for the lectin peanut in the structures of the duodenum of white Wistar rats from the first to sixty days after birth. Shows the increase in the age dynamics of receptors for the lectin wheat in the mucosa and submucosa through the proximal and distal duodenum. The changes the dynamics of the receptors for the lectin wheat in the duodenum after administration of antigen to rats in utero.

Key words: duodenum, receptors for the lectin wheat, newborn rat gamma globulin.

Лімфоїні структури, асоційовані зі слизовими оболонками, приймають активну участь у формуванні місцевого імунітету системи травлення [2]. Вивчення лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизовою оболонкою дванадцятипалої кишки, дозволить підійти до розкриття механізмів формування травлення у новонародженого, а також більш детальному вивченню алергічного аспекту захворювань кишечнику у дітей (кишкові інфекції, синдром мальабсорбції та ін.), хронічних захворювань кишечнику (хронічний дуоденіт, хронічна виразка шлунку та дванадцятипалої кишки та ін.) [4, 5]. Використання методів лектинової гістохімії дозволяє специфічно виявляти певні типи клітин у тканинних зрізах, не помітні при фарбуванні гематоксином та еозином. Специфічна гістотопографія рецепторів до лектинів обумовлює різноманітну локалізацію та різнонаправлений розвиток клітин. В ряді робіт показана динаміка розвитку дванадцятипалої кишки. Але розподіл рецепторів до лектинів, в тому числі і до лектину пшениці, у ранньому післянатальному періоді в дванадцятипалій кишці вивчені недостатньо.

Метою дослідження було вивчення особливостей розподілу рецепторів до лектину пшениці у оболонках дванадцятипалої кишки щурів у нормі та після внутрішньоплідного введення антигену.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження була дванадцятипала кишка білих щурів лінії Вістар, на 1-у, 3-ю, 7-у, 11-у, 14-у, 21-у, 30-у, 45-у та 60-у добу післянатального життя. Вікові групи встановлені розрахунковим шляхом, (Г. А. Добровольский, 1984р.). Щурів містили у виварі відповідно до рекомендацій

Ю.Н. Кожемякин та ін. В роботі досліджені 3-и групи тварин: перша група – інтактні щури, друга група – щури, яким вводили фізіологічний розчин NaCl, у ті ж терміни, що і експериментальним тваринам, третя група – експериментальні тварини, яким внутрішньоплідно вводили імуноглобулін людини. Внутрішньоплідне введення антигену здійснювалось плодам на 18-у добу внутрішньоплідного розвитку, оперативним шляхом (Волошин М.А., 1981р.). Забій тварин проводили шляхом декапітації. Для дослідження проводився забір дванадцятипалої кишки, яку розділяли на проксимальний та дистальний відділи. Межею між цими відділами вважали лінію, що розділює низхідну та висхідну частини дванадцятипалої кишки відповідно. Шматочки кишки фіксували в рідині Буена, проводились у висхідній концентрації спиртів та заливалися у воск-каучук-парафін. Готувалися серійні зрізи, товщиною 5-6 мкм. Для виявлення лімфоцитів, фенотипічно помітних, по вуглеводним залишкам проводили дослідження з застосуванням лектину пшениці (WGA⁺) в стандартних наборах "Лектинтест" (Львів). Обробку зрізів проводили кон'югатом лектин пшениці - пероксидаза хрому (WGA⁺-HRP). Для виявлення застосовували розчин 3,3-диметилбензидину. Облік результатів реакції з кон'югатами лектину пшениці WGA⁺ проводили напівкількісно при імерсійному збільшенні мікроскопу (об.90, ок.10): ++ - темно-коричневе забарвлення (позитивна реакція), + - світло-коричневе забарвлення - слабо позитивна реакція), 0 – відсутність реакції.

Отримані результати та їх обговорення: В

стінках проксимального та дистального відділів дванадцятипалої кишки щурів рецептори до лектину зав'язку пшениці в різноманітній кількості знайдені у слідуючих структурах: в епітеліальному шарі слизової оболонки – в епітеліальних клітинах як крипти, так ворсинки, келихоподібних клітинах, та в базальній мембрані. У підслизовій основі їх виявлено в сполучній тканині, дендритних клітинах, а також макрофагах, епітеліальних клітинах та в базальній мембрані стінок судин. В серозній оболонці ці рецептори знаходяться в мезотеліальних клітинах та в базальній мембрані.

В проксимальному та дистальному відділах дванадцятипалої кишки *новонароджених* інтактних щурів, в структурах епітеліального шару найбільша кількість залишків N – ацетил – D – глюкозаміну та сілової кислоти, знаходиться на базальній мембрані (++) . У складі мембран епітеліоцитів як ворсинки, так і крипти їх вміст декілька менший. Епітеліальні клітини

ворсинки світло-коричневого кольору (+), округлої форми, межа їх чітко окреслена, в їх апікальній частині можна виявити WGA⁺ глікокалікс з різко позитивною реакцією. Епітеліальні клітини крипти більші за розміром, ніж епітеліоцити ворсинки. Світло-жовтого кольору цитоплазма келихоподібних клітин.

В підслизовій основі слизової проксимального та дистального відділів дванадцятипалої кишки визначається найбільша кількість вуглеводних залишків N – ацетил – D – глюкозаміну та сілової кислоти на базальній мембрані судин. На мембранах клітин ендотелію спостерігається менша їх кількість. Також в підслизовій основі виявляються поодинокі WGA⁺ макрофаги (вони округлої форми та мають розмір більше 10 мкм в діаметрі) та дендритні клітини. Вони мають різноманітну форму та малопозитивну реакцію цитоплазми світло-коричневого кольору. Сполучнотканинні волокна підслизової основи також є WGA⁺ (табл. 1,2).

Таблиця 1. Інтенсивність забарвлення структур проксимального відділу дванадцятипалої кишки після постановки реакції з лектином зародків пшениці (WGA)

Тканеві структури та клітинні елементи	Доба після народження, групи тварин та інтенсивність забарвлення											
		1-а	3-я	7-а	11-а	14-а	21-а	30-а	45-а	60-а		
Слизова оболонка	Епітеліоцит крипти	N	+	+	++	++	++	++	++	++	+	
		F	+	+	++	++	++	++	++	++	+	
		γ	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	Епітеліоцит ворсинки	N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		γ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Келихоподібні клітини	N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		γ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Секрет келих. клітин у просвіті	N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		γ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Цитоплазма ВЕЛ	N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		γ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Базальна мембрана	N	++	+	++	++	++	++	++	++	++	
		F	++	+	++	++	++	++	++	++	++	
		γ	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	Підслизова основа	Стволові клітини	N	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			F	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			γ	+	+	+	+	++	++	++	++	+
Сполучна тканина		N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		γ	++	++	++	++	++	++	++	+	+	
Дендритні клітини		N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		γ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Макрофаги		N	+	+	+	+	++	++	++	++	+	
		F	+	+	+	+	++	++	++	++	+	
		γ	+	+	+	+	+	+	++	++	+	
Стінки судів	Ендотеліоцити	N	+	+	++	++	++	++	++	++	+	
		F	+	+	++	++	++	++	++	++	+	
		γ	+	+	++	++	++	++	++	++	+	
	Базальна мембрана	N	++	+	++	++	++	++	++	++	++	
		F	++	+	++	++	++	++	++	++	++	
		γ	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
Серозна	Цитоплазма мезотеліоцитів	N	+	+	+	+	++	++	+	+	++	
		F	+	+	+	+	++	++	+	+	++	
		γ	+	+	++	++	+	+	+	+	+	
	Базальна мембрана	N	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
		F	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
		γ	++	++	++	++	++	++	++	++	++	

Примітка. 1.N- інтактна група, F-контрольна група, γ- експериментальна група. 2. ++ - темно – коричневе забарвлення, + - світло – коричневе забарвлення, 0- відсутність забарвлення.

В серозній оболонці обох відділів дванадцятипалої кишки бензидинова мітка до лектину зародків пшениці найбільш сильно розподілена упродовж базальної мембрани та має темно-коричневий колір

(табл. 1). У новонароджених щурів, які внутрішньоплідно отримували гамаглобулін, у слизовій оболонці бензидинова мітка розподілена як у інтактних тварин, за виключенням епітеліальних клітин крипти, які стають різко WGA⁺ позитивними. В їх цитоплазмі диффузно розташовані невеликі WGA⁺ включення, кількість яких зменшується в епітеліоцитах від крипти до ворсинки.

В підслизовій основі дванадцятипалої кишки експериментальних щурів, в порівнянні з інтактною групою, бензидинова мітка до лектину зародків пшениці

ніці розподілена найбільш насичено упродовж базальної мембрани судин, а також на сполучнотканинних волокнах, де вона стає близько до темно-коричневого забарвлення (табл. 1,2).

В серозній оболонці дванадцятипалої кишки розподіл бензидинової мітки до зародків пшениці такий же, як і у інтактних тварин.

У контрольних щурів розподіл рецепторів до лектину зародків пшениці відповідає інтактній групі тварин (табл. 1, 2).

Таблиця 2. Інтенсивність забарвлення структур дистального відділу дванадцятипалої кишки після постановки реакції з лектином зародків пшениці (WGA)

Тканеві структури та клітинні елементи	Доба після народження, групи тварин та інтенсивність забарвлення											
		1-а	3-я	7-а	11-а	14-а	21-а	30-а	45-а	60-а		
Слизова оболонка	Епітеліоцит крипти	N	+	+	++	++	++	++	++	++	+	
		F	+	+	++	++	++	++	++	++	+	
		γ	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
	Епітеліоцит ворсинки	N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		γ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Келихоподібні клітини	N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		γ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Секрет келих. клітин у просвіті	N	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	γ	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Цитоплазма ВЕЛ	N	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	γ	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Базальна мембрана	N	++	+	++	++	++	++	++	++	++		
	F	++	+	++	++	++	++	++	++	++		
	γ	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
Підслизова основа	Стволові клітини	N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		γ	+	+	+	+	++	++	++	++	+	
	Сполучна тканина	N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		F	+	+	++	++	++	++	++	++	+	
		γ	++	++	++	++	++	++	++	++	+	
	Дендритні клітини	N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		γ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Макрофаги	N	+	+	+	+	++	++	++	++	+	
		F	+	+	+	+	++	++	++	++	+	
		γ	+	+	+	+	+	+	++	++	+	
	Стінки судів	Ендотеліоцити	N	+	+	++	++	++	++	++	++	+
			F	+	+	++	++	++	++	++	++	+
			γ	+	+	++	++	++	++	++	++	+
		Базальна мембрана	N	++	+	++	++	++	++	++	++	++
			F	++	+	++	++	++	++	++	++	++
			γ	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Серозна	Цитоплазма мезотеліоцитів	N	+	+	+	+	++	++	+	+	++	
		F	+	+	+	+	++	++	+	+	++	
		γ	+	+	++	++	+	+	+	+	+	
	Базальна мембрана	N	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
		F	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
		γ	++	++	++	++	++	++	++	++	++	

Примітка. 1.N- інтактна група, F-контрольна група, γ- експериментальна група. 2. ++ - темно – коричневе забарвлення, + - світло – коричневе забарвлення, 0- відсутність забарвлення.

У дванадцятипалій кишці інтактних *тижневих щурів* темно-коричневого забарвлення набувають епітеліоцити, які розташовані в крипті. Збільшується кількість внутрішньоплазматичних включень, які мають WGA⁺ позитивну реакцію. Клітини, що мають ці включення, в стінці проксимального та дистального відділів дванадцятипалої кишки розташовані скупченнями, в кількості від 2 до 6-8 клітин. Також у щурів цього терміну збільшується кількість залишків вуглеводу N – ацетил – D – глюкозаміну та сілової кислоти на мембрані ендотеліальних клітин в судинах підслизової основи (табл. 1,2). На відміну від попередніх вікових груп,

в цитоплазмі мезотеліальних клітин серозної оболонки можна відмітити різко позитивну WGA⁺ реакцію. Як у інтактних, так і у експериментальних тварин, в порівнянні з попереднім терміном, кількість рецепторів до лектину зародків пшениці в ендотеліальних клітинах судин збільшується. У антигенпремійованих щурів, на відміну від інтактної групи, кількість WGA⁺ позитивних речовин в цитоплазмі мезотеліальних клітин не змінюється. У щурів, що у внутрішньоплідному періоді одержували фізіологічний розчин, розподіл рецепторів до лектину зародків пшениці такий же, як у інтактних тварин (табл. 1, 2).

З чотирнадцятої доби життя в проксимальному та дистальному відділах дванадцятипалої кишки у інтактних та контрольних тварин збільшується кількість розташованих в крипти епітеліальних клітин, які містять в їх цитоплазмі гранули з WGA⁺ - реакцією. Вірогідних змін в розподілі рецепторів до лектину зародків пшениці в інших структурах епітеліального шару слизової оболонки проксимального та дистального відділів дванадцятипалої кишки, в порівнянні з одинадцятидобовими тваринами не спостерігається. В підслизовій основі слизової оболонки можна визначити збільшення накопичення бензидинові мітки до темно-коричневого забарвлення на мембранах макрофагів. В інших структурах підслизової основи істотних змін не спостерігається (табл. 1). В серозній оболонці стінки органу розподіл рецепторів до лектину зародків пшениці не змінюється в порівнянні з попереднім терміном.

В експериментальній групі тварин цього терміну в проксимальному та дистальному відділах дванадцятипалої кишки в розподілі рецепторів до лектину зародків пшениці змін не виявлено (табл. 1, 2).

Поступово у антигенпремійованих щурів можна відмітити зменшення вуглеводних залишків N – ацетила – D – глюкозаміну в сполучній тканині. Вона стає слабо WGA позитивна. Також у тварин цього терміну на клітинних мембранах макрофагів спостерігається збільшення бензидинові мітки. В інших структурах проксимального та дистального відділів дванадцятипалої кишки істотних змін не спостерігається.

На піддесятю добу післянатального життя в проксимальному та дистальному відділах дванадцятипалої кишки інтактних щурів, в порівнянні з попереднім терміном, спостерігається зменшення інтенсивності забарвлення епітеліальних клітин розташованих в крипти. Також спостерігається зменшення кількості клітин, в цитоплазмі яких розташовані WGA⁺ -позитивні гранули. В підслизовій основі слизової оболонки спостерігається зменшення вмісту залишків вуглеводу N – ацетил – D – глюкозаміну та сілової кислоти на клітинних мембранах ендотеліальних клітин судин, а також на макрофагах. В інших структурах обох відділів дванадцятипалої кишки в розподілі бензидинові мітки змін не виявлено (табл. 1, 2).

Таким чином, в проксимальному та дистальному відділах дванадцятипалої кишки щурів найбільша кількість рецепторів до лектину зародків пшениці розташовано у складі базальних мембран епітеліальних клітин слизової оболонки, ендотеліоцитів судин та серозній оболонці. Менша їх кількість розташована в епітеліальних клітинах слизової оболонки та сполучної тканини, дендритних клітинах, ендотеліальних клітинах судин, макрофагах та мезотеліальних клітинах серозної оболонки. Відсутність рецепторів до лектину зародків пшениці виявлена в келихоподібних клітинах, внутрішньоепітеліальних лімфоцитах, а також у лімфоцитах, розташованих у складі підслизової основи.

У щурів всіх трьох досліджуваних груп в цитоплазмі деяких клітин епітелію крипти спостерігаються WGA⁺ - позитивні включення, які розташовані в апікальній частині клітин. У інтактних тварин ці клітини з'являються в 3-7 діб та зникають

до 60-ї доби. У тварин, які у внутрішньооплідному періоді одержували гамаглобулін, гранули в епітеліальних клітинах крипти визначаються в їх цитоплазмі до двох місяців. Також до місячного віку, можна відмітити у антигенпремійованих щурів більший, ніж у інтактних тварин вміст відкладень бензидину.

Висновки:

1. У новонароджених щурів найбільша кількість рецепторів до лектину зародків пшениці розташовано у складі базальних мембран епітеліальних клітин слизової оболонки, ендотеліоцитів судин та серозній оболонці.

2. Після внутрішньооплідного введення антигену у новонароджених тварин спостерігається вірогідне збільшення WGA⁺ структур в клітинах проксимального та дистального відділів дванадцятипалої кишки, в порівнянні з інтактними.

Перспективи подальших досліджень: В подальшому планується вивчити глікопротеїновий склад дванадцятипалої кишки та виявити залежність між кількістю відкладень бензидину та кількостями, а також якісними змінами в стінці дванадцятипалої кишки.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Волошин Н.А., Карзов М.В., Новоселова О.А. та ін. Внутритрубова антигенна стимуляція - фактор морфогенеза органів імунної системи.- «Морфологія».-1996. - Т. 105.- № 9-10.- С.60.
2. Игнатьева Г.А. Современные представления об иммунитете (контуры общей теории)/ Г.А. Игнатьева, Б.Г.- «Патол. физиология и эксперим. Терапия». - 2003. -№ 2. - С. 2-7.
3. Нестерова И.В. Особенности строения и функционирования иммунной системы желудочно-кишечного тракта/ И.В. Нестерова, И.Н. Швыдченко.- «Аллергология и иммунология». - 2002. Т. 3. -№ 2. - С. 282 - 292.
4. Светлицкий А.А. «Морфологические изменения стенки тонкой кишки крыс в постнатальном периоде, после внутриутробного введения антигена».- «Запорожский медицинский журнал».-№ 5(38).- Том 1.- 2006. – С.10
5. Хаитов Р. М., Пинегин Б.В. Новые данные о строении и функционировании иммунной системы желудочно-кишечного тракта. «Анналы хирургической гепатологии».- 2002.- том 7.- № 2.- с.105 – 110., «Анналы хирургической гепатологии».- 2003.- том 8.- № 1.- с.112 – 117.
6. Чутин С.В. Распределение рецепторов к лектину арахиса (PNA) в почках новорожденных крыс в норме и после внутриплодного введения антигена.- «Сборник материалов Научно-практической конференции».- Тернополь- 2008.

Надійшла 12.09.2011 р.

Рецензент: проф. С.А.Кашенко