

УДК 611.33.08: 612.017

© В. М. Евтушенко, С. С. Ключко, 2013

## ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛУДКА ПРИ АНТИГЕННОМ РАЗДРАЖЕНИИ

**В. М. Евтушенко, С. С. Ключко***Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. – д. мед. н., проф. Сирцов В. К.), Запорожский государственный медицинский университет. 69035 Украина, м. Запорожье, пр-т Маяковского, 26. E-mail: kluchko\_sv@mail.ru.*

### FORMATION FEATURES OF THE STOMACH IMMUNOMORPHOLOGICAL COMPLEX AT ANTIGEN STIMULATION

**V. M. Evtushenko, S. S. Kluchko**

#### SUMMARY

The study has established changes of the cell population formation in the stomach lymphoid clusters of rats with antigen stimulation. In the experimental group, at all the periods of the postnatal development the number of lymphocytes exceed the benchmarks.

### ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ІМУНОМОРФОЛОГІЧНОГО КОМПЛЕКСУ ШЛУНКУ ПІСЛЯ АНТИГЕННОЇ СТИМУЛЯЦІЇ.

**В. М. Євтушенко, С. С. Ключко**

#### РЕЗЮМЕ

В дослідженні встановлені зміни у формуванні клітинної популяції лімфоїдних скупчень шлунка щурів при антигенній стимуляції. В експериментальній групі у всі періоди постнатального розвитку склад лімфоцитів перевищує контрольні показники.

**Ключевые слова:** лимфоидные скопления, желудок, кровеносные сосуды, антиген, микроскопический метод.

В патогенезе пищевой аллергии, хронических гастродуоденитов у детей первоочередную роль играет нарушение системы иммунитета [7, 8]. По современным представлениям, желудок, подобно тонкому кишечнику, является смешанным экзокринно-эндокринным органом и его лимфоидная ткань является компонентом MALT-системы [1–4]. В то же время, практически отсутствуют исследования, направленные на изучение морфологического субстрата местных иммунных реакций в слизистой желудка.

Целью работы было исследование формирования клеточных реакций в слизистой оболочке желудка при антигенном раздражении.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования взяты желудки 40 крыс линии Вистар в возрасте от 1-х до 14-х суток постнатального развития. В эксперименте использовали 3 группы животных: первая – интактные крысы, вторая – контрольная, животным которой вводили физиологический раствор хлорида натрия, третья группа – экспериментальные животные, которым вводили инактивированную сплит-вакцину для профилактики гриппа Ваксигрипп внутримышечно на 18 сутки внутриутробного развития. Введение антигена и физиологического раствора плодам осуществлялось оперативно во время лапаротомии, путем чрезматочной, чрезоболочечной подкожной инъекции в объеме 0,05 мл каждому плоду по способу Волошина Н. А., предложенному в 1981 году. При работе с экспериментальными животными руководствовались «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, которые используются в экспериментальных

и других целях», принятой в г. Страсбурге в 1986 году. Забой животных осуществляли с 12.00 по 15.00 путем декапитации под эфирным наркозом.

Для морфологического исследования материал брали из различных отделов желудка. Кусочки материала фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, жидкости Буэна, обезжировали, затем заключались в парафин и изготавливались серийные срезы толщиной 4–5 мкм по общепринятой методике Э. Пирса (1962). Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином Карazzi и Эрлиха, эозином.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Желудок крыс представляет собой мешковидное образование пищеварительного тракта. Пищевод открывается по середине малой кривизны желудка, а область непосредственно вокруг него образует кардиальную часть. Средняя часть желудка со стороны большой кривизны, примыкающая к пищеводной части, называется дном желудка. Область вокруг входа в двенадцатиперстную кишку образует пилорическую часть. Железистый эпителий органа неоднороден по составу и строению в различных отделах желудка. В дне и кардиальной части развиты трубчатые кардиальные и собственные железы, в пилорической части – альвеолярно-трубчатые и альвеолярные.

Наиболее многочисленные лимфоидные скопления наблюдаются в кардиальной и пилорической области желудка. Формирование лимфоидных скоплений происходило путем миграции из венул микроциркуляторного русла. Установлено, что в составе лимфоидных скоплений преобладали малые и средние лимфоциты, 60–70%

которых относились к тимусзависимым лимфоцитам. Состав лимфоидных скоплений после 4–7 суток менялся. Среди лимфоидных клеток появлялись ретикулярные клетки, макрофаги и плазматические клетки. Выявлялись и лимфобласты с фигурами митоза в ядрах. За счет пролиферации лимфоидных клеток, на основе лимфоидных скоплений, развивались периваскулярные лимфоидные узелки. После внутриутробного введения антигена увеличилось число лимфоидных образований в собственной пластинке слизистой оболочки, около кровеносных сосудов и в области желез. С возрастанием сроков, число лимфоидных образований, связанных с сосудами уменьшается, а в области железистого эпителия увеличивается. Клеточный состав лимфоидных скоплений наиболее резко изменился на 3–7 сутки раннего постнатального периода у экспериментальных животных (таб. 1).

В результате антигенной стимуляции на третий день постнатального развития отмечалось усиление миграции лимфоцитов, которые большей частью располагались диффузно под железистым эпителием подопытной группы по сравнению с контрольной группой животных, где наблюдались единичные лимфоциты.

Среди лимфоидных клеток есть лимфоциты, макрофаги, ретикулярные клетки. В это время заметно, по сравнению с контрольной группой, возрастает количество бластных форм лимфоцитов. Прослеживаются контакты макрофагов с лимфоцитами.

Контактирующие клетки образуют фигуры в виде розеток, в центре которых находится макрофаг, а по окружности венчиком залегают лимфоциты.

Преимущественным местом локализации лимфоцитов на третьи сутки жизни в экспериментальной группе являются лимфоидные скопления около кровеносных сосудов. В этих участках лимфоциты образуют скопления, насчитывающие по 5–6 клеток в поле зрения, в контрольной группе животных эти клетки практически не определялись. Наличие макрофагов и тесные контакты с ними предшественников плазматических клеток говорят о том, что взаимодействие макрофагов, как антигенпрезентирующих клеток, и лимфоцитов необходимо не только в момент инициации иммунного ответа.

Формирование центров размножения в лимфоидных узелках желудка крыс начинается с 11 дня постнатального периода в экспериментальной группе,

в дальнейшем в них происходит пролиферация и формирование остальных зон лимфоидных структур. Изменения клеточного состава периваскулярных лимфоидных узелков после антигенной стимуляции во многом аналогичны с таковыми в лимфоэпителиальных узелках.

На одиннадцатые сутки в экспериментальной группе в лимфоэпителиальных узелках в суб-эпителиальной зоне наблюдалось усиление миграции лимфоцитов в эпителий, который может быть отнесен к призматическому однорядному. В лимфоэпителиальных узелках кроме этой зоны различают еще две зоны. Более темная – периферическая зона, состоит из плотно прилежащих к друг другу малых лимфоцитов. Эта зона в виде «шапочки» охватывает центральную зону. Следует отметить различный характер процессов, происходящих на 7–11 сутки в центрах размножения после антигенной стимуляции. В последних наблюдается довольно однородная картина: в темной зоне (а она и является зачатком развивающегося центра размножения) преобладают лимфобласты, лишь несколько отличающихся друг от друга по размерам. Часть из них митотически делится.

За счет пролиферации лимфоидные образования разрастались в сторону железистого эпителия. Увеличилось содержание ретикулярных клеток и лимфоцитов, появлялись плазматические клетки.

Большое количество макрофагов отмечается на седьмые сутки постнатального периода в экспериментальной группе в центрах размножения, где в тесных взаимоотношениях с макрофагами находятся предшественники антителосинтезирующих клеток – плазмобласты и юные плазмциты. В макрофагах встречаются тельца – остатки разрушенных клеток. К концу второй недели (четырнадцатые сутки) в лимфоидных узелках отчетливо заметны все зоны (рис. 1). В центральной зоне лимфоэпителиальных узелков отмечалось наибольшее количество митозов.

В периферической зоне увеличилось содержание плазматических клеток и малых лимфоцитов. В составе субэпителиальной зоны увеличилось количество фагоцитирующих макрофагов, в цитоплазме которых находились остатки ядер лимфоцитов. Эти клетки были окружены лимфоцитами, что напоминало иммунные розетки, описываемые в иммунологических исследованиях. В субэпителиальной зоне, по сравнению с контролем,

Таблица 1

**Процентное соотношение (X±Sx) клеток в лимфоидных узелках желудка крыс после внутриутробного введения антигена**

Клетки	Контроль	Сутки постнатального развития в экспериментальной группе			
		3	7	11	14
Малые лимфоциты	32,0 ± 3,0	18,0 ± 3,0	14,0 ± 1,0	12,0 ± 2,0	12,0 ± 1,0
Средние лимфоциты	59,0 ± 6,0	66,0 ± 4,0	66,0 ± 5,0	69,0 ± 3,0	70,0 ± 4,0
Лимфобласты	6,0 ± 1,0	9,0 ± 0,5	10,0 ± 0,4	12,0 ± 0,5	10,0 ± 0,7
Плазмциты	2,0 ± 0,5	4,0 ± 0,5	6,0 ± 0,3	6,0 ± 0,2	7,0 ± 0,2
Макрофаги	1,0 ± 0,3	3,0 ± 0,2	3,0 ± 0,2	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,2

увеличилось процентное содержание малых лимфоцитов, а средних лимфоцитов уменьшилось, появлялись ретикулярные клетки, и нарастало количество макрофагов.

Просветы лимфатических сосудов и венул переполнялись малыми лимфоцитами. После антигенного раздражения уже в ранние сроки в экспериментальной группе (вторые-четвертые сутки) отмечалось расхождение межэндотелиальных контактов кровеносных капилляров лимфоэпителиальных узелков. Около апикального края эндотелиоцитов обнаруживались щели, локализация которых очевидно соответствовала локусам повышенной проницаемости.

Определенное значение в барьерно-защитной функции желудка играют кровеносные сосуды, которые расположены возле лимфоидных образований и в подслизистой основе.

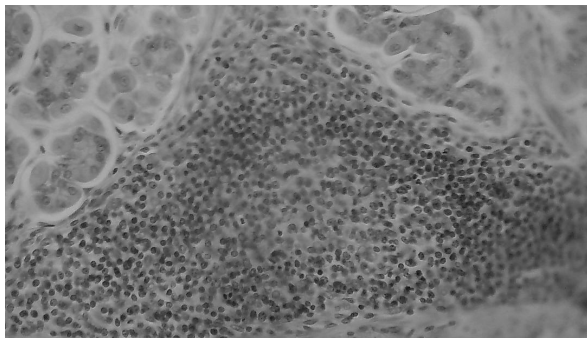
Изменение клеточного состава в лимфоидных узелках желудка крыс после антигенной стимуляции обуславливает специфическую цитоархитектонику гемомикроциркуляторного русла. Установлено, что при антигенном стимулировании увеличивается площадь, занимаемая различными звеньями микроциркуляторного русла лимфоидных узелков. На 7–14 сутки увеличивается просвет кровеносных капилляров и возрастает миграция через капилляры и посткапиллярные вены лимфоцитов и плазматических клеток.

Таким образом, у крыс после внутриутробного введения антигена формирование лимфоидных структур отмечается на трое суток раньше, чем у интактных и контрольных животных. Вначале появляются лимфоидные образования возле кровеносных сосудов – периваскулярные лимфоидные образования. К середине второй недели происходит формирование лимфоидных структур в области железистого эпителия желудка крыс.

В лимфоидных структурах размещение лимфоцитов во все периоды превышает контрольные показатели. В клеточной популяции лимфоидных скоплений выявлено более высокое содержание средних и больших лимфоцитов в сравнении с контролем.

#### ВЫВОДЫ

В основе иммунной резистентности желудочно-кишечного тракта лежит сложный механизм



**Рис. 1.** Лимфоидный узелок в желудке крысы на четырнадцатые сутки после введения антигена

взаимосвязанных процессов, в котором участвуют разные типы клеток, объединенных в иммуноморфологический комплекс.

Происходящие при антигенном раздражении процессы, протекают на различных уровнях структурно-функциональной организации клеток и тканей и совместно обуславливают формирование иммунного ответа.

#### ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В связи с этим, в дальнейшем планируется изучение структурно-функциональных особенностей лимфоидной ткани желудка в возрастном аспекте, исследования особенностей влияния антигенной стимуляции на иммуноморфологический комплекс желудка с помощью современных иммуногистохимических методов.

Выяснение этих и других частных вопросов составляют задачу будущих исследований.

*Работа является фрагментом НИР кафедр нормальной анатомии, гистологии, цитологии и эмбриологии, оперативной хирургии и топографической анатомии, госпитальной педиатрии ЗГМУ «Закономерности морфогенеза лимфоидных органов в раннем постнатальном периоде в норме и после внутрибрюшной антигенной стимуляции и способы коррекции иммунологического дефицита с помощью иммуномодуляторов» (№ госрегистрации 0194 н008429), «Особенности морфогенеза органов лимфоидной системы плодов и новорожденных после моделирования нарушений в системе мать – плацента – плод» (№ госрегистрации 0103и003927).*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гусейнова С. Т. Анатомо-морфометрическая характеристика лимфоидных образований желудка у белых крыс в условиях нормы/С. Т. Гусейнова, Т. С. Гусейнов//Сборник статей «Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии». – Махачкала, 2004. – Вып. 1. – С. 93–96.
2. Карсонова М. И. Лимфоидные образования слизистых оболочек: принципы топической иммунизации/М. И. Карсонова, Б. В. Пинегин//Иммунология. – 2003. – № 6. – С. 359–364.
3. Патоморфологические критерии местной иммунологической резистентности слизистых оболочек/[В. К. Сырцов, В. М. Евтушенко, Г. П. Койгушская, О. В. Федосеева]/Запор. мед. журн. – 2005. – № 6 (33). – С. 105–106.
4. Перфилова Е. А. Влияние иммуномодуляторов на морфогенез лимфоидной ткани кишечника у лабораторных животных: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. вет. наук: спец. 16.00.02 «Патология, онкология и морфология животных»/Е. А. Перфилова. – Киров, 2008. – 125 с.
5. Степанов С. П. Состояние лимфоидной ткани слизистой оболочки желудка в зрелом возрасте при остром отравлении сурогатам алкоголя/С. П. Степанов//Морфология. – 2006. – Т. 120, № 4. – С. 114–115.
6. Суханов С. Г. Пренатальный риск и морфогенез человека/С. Г. Суханов, С. А. Дынина//Современные аспекты фундаментальной и прикладной морфологии: материалы Всерос. науч. конференции с международным участием. – СПб.: СПбГМУ, 2004. – С. 227–229.
7. Фактори захисту слизової оболонки шлунка та дванадцятипалої кишки/Е. Ф. Барінов, О. М. Сулаєва, П. Г. Кондратенко [та ін.]//Сучасна гастроентерологія. – 2011. – № 6 (62). – С. 116–123.
8. Гусейнова С. Т. Иммунологические аспекты желудочно-кишечного тракта/С. Т. Гусейнова, Т. С. Гусейнов//Успехи современного естествознания. – 2008. – № 5. – С. 12–14.