

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ОРГАНИЗМА И ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ ИХ ВВЕДЕНИЕМ СОЛКОСЕРИЛА

¹В. Н. Почтарь, ²Б. А. Насибуллин

¹Украинский НИИ стоматологии НАМН Украины, Одесса

²ГУ "Украинский НИИ медицинской реабилитации и курортологии", Одесса

Резюме

Авторы, по результатам исследований 65 белых крыс линии Вистар аутбредного разведения, у которых моделировали гиперчувствительность иммунной системы замедленного типа и травму слизистой щеки, выявили системное нарушение дизрегуляционного характера в виде ослабления дифференциации эпителиоцитов, снижении активности NO-S и накоплении липидов в кишечнике и аорте. Эти изменения формировались на фоне дистрофических изменений лимфоидных фолликул стенки кишечника. Курс солкосерила восстанавливал структуру фолликул и нормализовал остальные исследуемые показатели. Авторы полагают, что изменение лимфоидных фолликул способствует развитию дизрегуляционных и аутоиммунных процес сов в организме, что делает возможным формирование МЭЭ. Солкосерил, в силу своих свойств (стимулятор репарации), оказывал положительное влияние не только на эпителий, но и на структурно-функциональную организацию лимфоузлов, что способствовало снижению аутоиммунных реакций.

Ключевые слова: гиперчувствительность иммунной системы; солкосерил; фолликулы, NO-синтаза; экссудативная эритема.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN THE ORGANISM OF RATS WITH HYPERSENSITIVITY DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL ORGANISMS AND THE POSSIBILITY OF CORRECTING THEIR INTRODUCTION SOLKOSERIL

¹V. N. Pochtar, ²B. A. Nasibullin

¹Ukrainian Research Institute of Dental Academy of Medical Sciences Ukraine

²The Ukrainian scientific and research institute of medical rehabilitation and balneology of the Ministry of health of Ukraine, Odessa, Ukraine

Abstract

The authors, based on the results of research of 65 white outbred Wistar rats breeding in which simulated hypersensitivity of the immune system and delayed-type injury buccal mucosa revealed a systemic disorder dizregulyatsionnogo nature in the form of weakening the differentiation of epithelial cells, reducing NO-S activity and the accumulation of lipids in the intestine and aorta. These changes are formed on the background of degenerative changes in the lymphoid follicles of the intestinal wall. Course solcoseryl restoring the follicle structure and normalized the remaining studied parameters. The authors suggest that a change in the lymphoid follicles contributes to the development of autoimmune processes dizregulyatsionnyh and owls in the body, which makes possible the formation of the magnetoelectric effect. Solkoseril, by virtue of its properties (repair stimulant), had a positive impact not only on the epithelium, but also on the structural and functional organization of the lymph nodes, which contributed to the reduction of autoimmune reactions.

Keywords: hypersensitivity of the immune system; solkoseril; follicles NO-sintaza; erythema.

Многофакторная экссудативная еритема (МЭЭ) – острое рецидивирующее заболевание кожи и слизистых оболочек, является актуальной проблемой дерматологи, инфектологии, стоматологии [1, 2] Для последней МЭЭ стала проблемой в настоящее время в связи с увеличением частоты и объема поражений слизистой ротовой полости [5]. Основным морфологическим субстратом МЭЭ признается моноцитарный, лимфоцитарный инфильтрат вокруг сосудов сосочков подслизистой или собственно кожи. В базальном слое эпителиального

покрытия слизистой при этом развивается внутри- и межклеточный отек с последующим формированием пузыря [2].

Развитие МЭЭ связывают с токсико-аллергическими или инфекционно-аллергическими процессами в организме больного. Протекание этих процессов в организме может формировать аутоиммунные реакции, одним из проявлений которых является эндотелиальная дисфункция и связанное с ней нарушение проницаемости сосудов [5, 4], а также искажение регуляторной деятельности иммунной системы.

Однако в доступной литературе мы не встретили данных о структурно-функциональных сдвигах во внутренних органах и в покровных слизистых оболочках, непосредственно связанных с влиянием конкретных токсико-аллергических факторов. Кроме того, мы не встретили данных о коррекции структурно-функциональных изменений во внутренних органах, возникших под влиянием токсико-аллергических факторов препаратами, влияющими на репаративную и дифференцирующую активность тканей.

Исходя из вышесказанного, целью работы была оценка структурных и функциональных изменений во внутренних органах крыс при экспериментальной гиперчувствительности иммунитета и обоснование возможности их коррекции препаратом, влияющим на репаративную активность (солкосерил).

Материалы и методы исследований.

Материалом настоящего исследования послужили данные, полученные при исследовании 65 белых крыс линии Вистар аутобредного разведения массой тела 180-200 г. Животные были ранжированы на 3 группы.

I группа – 10 интактных животных, служивших контролем.

II группа – 40 крыс, у которых моделировали состояние гиперчувствительности иммунной системы (ГИМС) подкожным введением 50 мг/кг дибутилфталата и полного адьювант Фрайна (0,2 мг/одно животное). Во II группе состояние внутренних органов оценивали на 5 и 11 день эксперимента. В III группе – состояние животных оценивали по завершению курса солкосерила. Солкосерил был выбран в качестве корректора, так как одним из основных его фармако свойств является стимуляция репарации и дифференцировки эпителия.

Животные выводились из опыта декапитацией под легким эфирным наркозом. На аутопсии извлекали участок грудной аорты, участок тонкой кишки и кусочек слизистой щеки, на котором через сутки после формирования ГИМС осуществляли скарификацию. Часть органов заливали в целлоидин по общепринятым методикам, часть материала после фиксации в 4 % параформальдегиде (2 часа) замораживали жидким азотом. Из целлоидиновых блоков получали гистологические срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином. Из

замороженных блоков изготавливали криостатные срезы толщиной 11 мкм, на которых методом Винсента Кимуры

[6] определяли активность НО-синтазы, а окраской суданом черным В по Беренбауму [5] определили содержание липидов. Полученные препараты исследовали под световым микроскопом.

Морфологические исследования слизистой щеки, стенки тонкого кишечника и аорты здоровых крыс дали следующие результаты.

В щеке мышечный слой представлен пучками переплетающихся миоцитов с выраженной поперечной иссергенностью, ядра вытянутые темные, подслизистая пластинка тонкая плотная. Эпителий формирует сосочки, входящие в подслизистую. Базальный слой эпителия представлен клетками с небольшими округлыми ядрами, местами они расположены в один ряд, местами (в глубине сосочка) формируют наплывы. Поверхностный слой эпителия представлен клетками с округлыми и овальными ядрами, в ядрах определяется гранулярно-волоконный рисунок, распределение ядер равномерное, имеют место небольшие гомогенные включения. Эпителий сверху прикрыт однородной эозинофильной массой. Визуально эпителиальный слой узкий.

Гистохимическое определение активности NO-S показало, что в сосудах слизистой эритроциты желто-коричневой окраски. Клетки базального слоя эпителия проявляют фоновую серо-коричневую окраску цитоплазмы. Можно говорить об умеренной или выше умеренной активности NO-S в эпителиоцитах.

Реакция (гистохимическая) на липиды показала, что фибробласты параслизистой пластинки черного цвета. Эпителиоциты с темно-серой диффузной окраской цитоплазмы.

В стенке аорты здоровых крыс наружная оболочка представлена рыхло расположенными, переплетными соединительно-ткаными волокнами, мелкие сосуды тонкостенные, умеренного кровонаполнения. В средней оболочке миоциты обычного вида, формируют пучки, эластик представлена слегка волнистыми пучками, формирующими достаточно длинные пластины. Фибробласты между ними с округлыми умеренной окраски ядрами. Эндотелиальная выстилка в целом сплошная, клетки располагаются монослоем, хотя есть небольшие участки наплывы. Ядра эндотелиоцитов овальные, темные, в местах наплывы темные, округлые, мелкие.

Гистохимическая реакция определения активности NO-S показала желтовато-коричневую окраску цитоплазмы эндотелиоцитов.

Окраска суданом черным показала, что эластик средней оболочки обладает умеренно-серой окраской, а эндотелиоциты – черной.

Морфологические исследования кишки показали, что наружная оболочка представлена формирующими сетчатые структуры фиброзными волокнами и мелкими сосудами умеренного

кровонаполнения с тонкими стенками. Миоциты средней оболочки обычного вида, ядра клеток овальные темноокрашенные. В подслизистой определяются средних размеров лимфоидные фолликулы. Герменативный центр небольшой из плотно упакованных лимфоидных элементов. Периферийная зона достаточно широкая, распределение лимфоидных элементов в ней умеренной плотности. Слизистая формирует ворсинки, в центре сосуд умеренного кровонаполнения, вокруг скопление лимфоидных и гистиоцитарных элементов. Эпителий ворсинок однослойный, клетки расположены частоколом, ядра овальные умеренной окраски. В глубине межворсистой пространства эпителиоциты формируют небольшие наплывы. Сверху эпителий перекрыт слоем однородного вещества, бледно эозинофильной окраски.

Окраска на липиды показала, что подслизистая пластина имеет серую умеренную окраску, эпителиоциты с серо-черной цитоплазмой; строма ворсинок черная.

Определение активности NO-S показало, что эпителиоциты имеют диффузную серовато-синеватую окраску (очень слабая активность). В подслизистой пластины бледно-коричневая фоновая окраска (слабая активность).

Повреждение слизистой щеки на фоне моделирования гиперчувствительности иммунитета в течение 5 суток сопровождалось изменениями со стороны исследуемых органов.

В подслизистой щеки мышечные пучки формируют сетчатую структуру, межпучковые прослойки отечно-набухшие, сосуды резко полнокровны, имеют место достаточно обширные скопления лимфоцитов. Визуально скопления жировых клеток увеличены, за счет укрупнения каждой клетки. Эпителиальные сосочки частые, но не глубокие. В базальном слое эпителиоциты средних размеров с довольно светлыми ядрами; располагаются клетки местами в один ряд, а местами формируют участки многорядности. В поверхностном слое ядра клеток крупные, светлые, округлые. Слизистая подушка достаточно толстая, эозинофильная.

Гистохимическое выявление активности NO-S показало бледно-серое, диффузное окрашивание эпителия (следовая или очень слабая активность), эритроциты в сосудах желто-коричневой окраски.

Окраска суданом черным на липиды показала, что эпителиоциты обладают серо-черной окраской, волокна соединительной ткани в подслизистой – черные (повышено содержание липопротеидов).

На 11 сутки модели мышечные пучки подслизистой формируют сетчатые структуры, сохраняется отечное разволокнение и уширение соединительнотканых прослоек. В эпителиальном слое сосочки глубокие, равномерно, не часто расположены. В базальном слое эпителия ядра клеток небольшие темноокрашенные, но участки многорядности сохраняются. В поверхностном слое клетки с округлыми светлыми крупными ядрами, уплощения их к периферии не отмечается.

Активность NO-S, по данным гистохимии, сохраняется очень слабой или следовой.

В эпителии слизистой и соединительной ткани содержание липидов увеличено (серо-черная окраска) в отличие от здоровых животных.

Исследование стенки аорты на 5 сутки моделирования показали, что адвентициальная оболочка представлена сетчатыми структурами фиброзных волокон. Сосуды полнокровны, но тонкостенные. В средней оболочке моноциты набухшие, ядра их овальные с нечеткой границей светлые. Эластические волокна формируют слабоволнистые мембраны, достаточно продолжительные, несколько набухшие. Эндотелий выстилающий аорту разрежен, участки с обычной плотностью распределения клеток чередуются с участками, где эндотелиоциты единичные или отсутствуют. Активность NO-S в эндотелии частью демонстрируют желтоватую окраску цитоплазмы, частью красновато-сероватую окраску цитоплазмы, частью красновато-сероватую, можно говорить о слабой активности этого фермента.

Окраска суданом черным на липиды демонстрирует серо-черную окраску эластики и черную окраску эндотелиоцитов, т.е. содержание липидов повышено.

На 11 сутки моделирования гиперчувствительности иммунитета структура оболочек аорты практически полностью соответствует приведенному выше описанию. Отличия состоят в том, что часть эндотелиоцитов имеет плоские темные ядра, а часть более округлые, такие клетки встречаются в местах формирования наплывов и в местах, где эндотелиоциты единичны.

Окраска стенки аорты на липиды показала различие в средней оболочке капиллярного цвета и серо-синюю окраску эндотелиоцитов. Можно полагать, что в средней оболочке продолжают накапливаться липиды, а в эндотелии изменяется их состав.

Активность NO-S в эндотелиоцитах ослаблена – они демонстрируют серовато-бледно-желтоватую окраску эндотелия.

Поскольку выявленные изменения в аорте мало изменяются с течением травмы слизистой щечки, можно полагать, что они обусловлены системными процессами в регуляторных механизмах организма крысы.

В стенке тонкой кишки на 5 сутки эксперимента отмечались следующие изменения: наружная оболочка обычного вида, состоит из формирующих сетчатую структуру фиброзных пучков. Сосуды тонкостенные умеренного полнокровия. В средней оболочке миоциты набухшие, ядра их мелкие темные. В подслизистой определяются мелкие (по сравнению с нормой) лимфатические фолликулы. Часть фолликул обычного вида, часть представляют собой неструктурированные скопления лимфоидных элементов. Между фолликулами рассеяны в большом количестве лимфоциты, здесь встречаются эозинофильные включения. Слизистая формирует многочисленные, достаточно высокие ворсинки. Эпителий, прикрывающий их, состоит из клеток, располагающихся частоколом, ядра их мелкие, темные. В центре ворсинки сосуд часто спазмированный. Собственное вещество содержит много лимфоидных элементов.

Окраска на липиды показала, что эпителиоциты, покрывающие ворсинки, имеют бледно-серую окраску, также окрашены элементы средней оболочки (сниженное содержание липидов).

Определение активности NO-S показало, что по контуру сосуда ворсинки распределены мелкие, не частые серовато-черноватые гранулы. Эпителиоциты проявляли диффузную бледную серо-фиолетовую окраску (следовая активность).

На одиннадцатые сутки после начала эксперимента адвентиция кишки по своим структурным характеристикам соответствует вышеприведенному описанию. В средней оболочке пучки миоцитов разделены набухшими соединительнотканными прослойками. Сами миоциты также набухшие. В подслизистой большинство фолликул представлены скоплениями лимфоидных элементов, структуризация фолликула не отмечается. Часть фолликул мелкае, но обычной структуры. В ворсинках, в собственном веществе, много лимфоидных элементов, сосуд в центре, чаще всего, спазмирован. Эпителиоциты, покрывающие ворсинку, содержат крупное светлое ядро.

Определение активности NO-S показало ее следовую активность (диффузная серовато-фиолетовая окраска). Содержание липидов в клетках снижено – сероватая окраска этих элементов. В то же время в подслизистой определяются мелкие, нечастые черные капли.

Вышеописанные изменения носят системный характер, их можно рассматривать как проявление дисрегуляции и связаны они, скорее всего, не с травмой слизистой щеки, а с развитием гиперчувствительности иммунитета.

После окончания курса солкосерила крысам, у которых на фоне гиперчувствительности иммунитета травмировали слизистую щеки. Морфологические изменения в щеке были следующими. Под слизистой мышечные пучки и пучки соединительнотканых волокон формируют сетчатые структуры. Видимых нарушений структуры этих элементов не выявлено. Сосуды умеренного кровонаполнения, лимфоидной инфильтрации не выявлено. Эпителий формирует нечастые, но глубокие сосочки. Базальный слой эпителия представлен многорядным расположением сочных, средних размеров ядрами. Поверхностный слой содержит клетки со светлыми крупными ядрами, которые ближе к поверхности приобретают овальную форму. При проведении реакции на выявление активности NO-S в сосудах эритроциты жерто-коричневые, эпителиоциты – серо-фиолетовой диффузной окраски – слабая активность.

При окраске суданом черным эпителиоциты демонстрировали серо-черную окраску, а в среднем слое миоциты – черные, т.е. содержание липидов нормализовалось.

Исследование стенки аорты у крыс этой группы показало, что адвентиция обачного вида, пучки фиброзных волокон формируют достаточно плотную сетчатую структуру, сосуды тонкостенные умеренного кровонаполнения. Медиа сформирована пучками миоцитов обачного вида, межпучковые прослойки тонкие, плотные. Эластика представлена умеренно волнистыми пластинами, формирующими сплошной, достаточно широкий слой. Эндотелиальная выстилка

сплошная, неравномерная. Участки довольно плотного распределения эндотелиоцитов соседствует с участками, где эндотелиоциты расположены на значительных расстояниях друг от друга. Ядра эндотелиоцитов на участках плотного распределения овальные темные, на участках разреженных – округлые темные.

В ваза-вазорум при реакции на активность NO-S эритроциты желто-коричневого цвета. В эндотелиоцитах цитоплазма такой же окраски (умеренная активность), как и у здоровых животных. Окраска суданом черным на липиды показала, что эндотелиоциты серо-черной окраски, в медиа - миоциты и эластика темно-серые, содержание липидов достаточно высокое.

Гистологическое исследование состояния стенки тонкой кишки крыс, получавших курс солкосерила на фоне гиперчувствительности иммунитета, показало, что наружная оболочка обычного вида, фиброзные волокна тесно переплетаются, формируя сетчатую структуру. Подслизистая пластинка плотная уширена (визуально), сосуды в ней полнокровны, определяется значительное число лимфоцитов. Фолликулы визуально очень крупные, некоторые формируют выпячивание эпителия в просвете кишки. Лимфоидные элементы фолликул сочно окрашены. Ферментативный центр большой, из плотно расположенных лимфоцитов, периферический – средней ширины с умеренной плотностью распределения лимфоцитов. Слизистая формирует достаточно высокие ворсинки, их основное вещество с умеренным количеством лимфоцитов, сосуд обычного кровонаполнения. Эпителиоциты с увеличенными ядрами с четким рисунком хроматина, светлые. Цитоплазма бледно окрашена.

Эпителиоциты ворсинок с красновато-фиолетовой диффузной окраской цитоплазмы, при проведении реакции на NO-S (слабая или чуть выше слабой активности).

Липиды выявляются в виде черных капель, рассеяных в подслизистой, цитоплазма эпителиоцитов темно-серая.

Таким образом, проведенные исследования показали, что формирование гиперчувствительности иммунитета сопровождается системными структурно-функциональными изменениями в организме крыс: уменьшение и деграция лимфоидных фолликул кишечника, ослабление дифференциации эпителиоцитов и эндотелиоцитов; снижение активности NO-S и увеличение внеклеточных липидов, т.е. возникают условия для дисрегуляции иммунной системы и формирования условий для развития аутоиммунных реакций. Повреждение щеки на этом фоне не вызывает дополнительных нарушений. Проведение курса солкосерила нормализует выявленные изменения, а в кишечных фолликулах стимулирует процессы репарации.

Литература

1. Запольский М.Э. – Многоморфная экссудативная эритема, ассоциированная с герпесвирусом. Этиология и патогенетически обоснованная терапия / Запольский М.Э.// Клиническая иммунология, алергология и инфектология. – 2012. - № 8 (57). – С. 52-56.
2. Кожные и венерические болезни (под. ред.. С.Т. Павлова / Руководство для врачей. – М.: Медицина. – 1978. – 392 с.
3. Мавров Г.И. – Комплексный метод лечения больных многоформной экссудативной эритемой, ассоциированной с герпесвирусной инфекцией с учетом клинических и лабораторных критериев / Г.И. Мавров, М.Э. Запольский // Український журнал дерматології, венерології, косметології. – 2013. - № 3 (50). – С. 29-37.
4. Лиходед В.Т. – Роль эндотоксина грамотрицательных бактерий в инфекционной и неинфекционной патологии / Лиходед В.Т., Ющук Н.Д.
5. Пирс Э. – Гистохимия. – М.:МИР, 1962. – 789 с.
6. Vincent S.R., Kimura H.- Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. – Neuroscienc. 1992. – V. 46. - N 4. – P. 755-784.
7. Erythema multiforma: A Review of Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Features, and Treatment / F. Samum, A. Auluck, C Zed, P.M. Williams // Dental clinics of North America. 2013. - v. 57 (4). – P. 583-596.

References

1. Zapolskiy ME - Mnogomorfnyaya erythema associated with herpesvirusom. Etiology and pathogenesis reasonable therapy / ME Zapolskiy .// Clinical Immunology, alergologiya and infectology. - 2012. - № 8 (57). - S. 52-56.
2. Skin and venereal disease (ed .. ST Pavlov / manual for doctors -. M .: Medicine -. , 1978. - 392 p.
3. Moors GI - Complex treatment of patients with exudative erythema multiforme associated with infection herpesvirusnoy considering clinical and laboratory criteria / GI Moors, ME Zapolskiy // Ukrainsky magazine dermatologii, venerologii, kosmetologii. - 2013. - № 3 (50). - S. 29-37.
4. Likhoded VT - The role of gram-negative endotoxin bakteriy in infectious and noninfectious pathology / Likhoded VT, ND Yushchuk
5. E. Pearce - Histochemistry. - Moscow: Mir, 1962. - 789 p.
6. Vincent S.R., Kimura H.- Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. – Neuroscienc. 1992. – V. 46. - N 4. – P. 755-784.
7. Erythema multiforma: A Review of Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Features, and Treatment / F. Samum, A. Auluck, C Zed, P.M. Williams // Dental clinics of North America. 2013. - v. 57 (4). – P. 583-596.