

ЗМІНА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ТОНКОЇ КИШКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ УРАЖЕННІ ОРГАНІЗМУ АЛЮМІНІО ХЛОРИДОМ

За умов експериментального ураження тонкої кишки алюмінію хлоридом проведено імунологічні, морфологічні та морфометричні дослідження, які вказують на існування кореляції між циркулюючими імунними комплексами, імуноглобулінами класів А, М, G і показниками кута галуження судин порожньої та клубової кишок на 1-шу, 4-ту, 7-му та 14-ту доби після отруєння. Кількісним підтвердженням токсичної дії хлориду алюмінію є структурна перебудова артерій, потовщення стінки судин і звуження їх просвіту, інфільтративні та деструктивні зміни в оболонках досліджуваних відділів, що вказують на суттєве ураження тонкої кишки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: циркулюючі імунні комплекси, імуноглобуліни, білі щури, алюмінію хлорид, морфологія, тонка кишка.

ВСТУП. Надлишкове надходження алюмінію за умов підвищеного вмісту його оксидів та солей у їжі, питній воді, повітрі, лікарських засобах, дезодорантах негативно впливає на організм людини, викликаючи порушення в системах органів травлення, серцево-судинній, видільній та нервовій [11, 17]. В організм людини алюміній, що зустрічається в природі, рідко потрапляє, але з технічним прогресом спостерігають тенденцію до збільшення впливу даного екзогенного чинника як на здоров'я людини, так і на інші живі організми.

Однією з важливих фізіологічних функцій імуноглобулінів є нейтралізація антигенів, у тому числі й автоантигенів, з утворенням циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та наступною їх елімінацією з організму, яка спрямована на підтримку імунобіологічного гомеостазу. Але за певних умов ЦІК можуть фіксуватися в судинній стінці та під базальними мембранами у деяких внутрішніх органах і викликати запальну реакцію [16, 18]. Тому проблемі дослідження ЦІК та імуноглобулінів приділяють значну увагу як одній з важливих ланок патогенезу імунного ураження органів і тканин організму [8, 12]. При цьому роль ЦІК у пошкодженні судинного русла та стінки тонкої кишки до кінця не вивчено. Серед опрацьованих джерел ми не знайшли праць, в яких було б розкрито питання впливу хлориду алюмінію на структурно-морфологічний стан досліджуваного органа та з'ясовано існування кореляційних зв'язків між імуноглобулінами і ЦІК.

© О. М. Ярема, 2013.

Метою даної роботи було дослідити зміни структурно-морфологічного стану порожньої, клубової кишок та їх артерій при експериментальному ураженні хлоридом алюмінію, а також встановити кореляційні зв'язки з концентраціями ЦІК та імуноглобулінів у сироватці крові піддослідних тварин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Імунологічні, морфологічні та морфометричні дослідження проводили на 77 білих статевозрілих щурах-самцях масою 180–200 г, яких утримували в умовах віварію. Усіх тварин поділили на п'ять груп. Щурів отруювали шляхом внутрішньочеревного введення їм розчину хлориду алюмінію в нашій модифікації [13]. Білих щурів дослідної групи виводили з експерименту на 1-шу, 4-ту, 7-му та 14-ту доби шляхом швидкої декапітації відповідно до Науково-практичних рекомендацій із утримання лабораторних тварин та роботи з ними [5, 6].

У роботі використано метод кількісного визначення ЦІК шляхом преципітації в розчині поліетиленгліколю-6000 [14]. Принцип методу визначення кількості імуноглобулінів полягав у фракціонуванні білків сироватки крові органічними розчинниками і буферними розчинами [10]. Кількісну оцінку просторової організації артерій порожньої та клубової кишок білих щурів проводили за оригінальною методикою К. А. Шошенко і співавт. [15]. Забір та обробку вирізаних шматочків з порожньої і клубової кишок піддослідних тварин здійснювали відразу після їх евтаназії, яку виконували

шляхом кровопускання в умовах тіопентал-натрієвого наркозу. Також проводили морфометричні виміри порожньої та клубової кишок, при цьому визначали товщину всієї кишкової стінки, слизової з підслизовою основою, м'язової та серозної оболонки, висоту і ширину ворсинок, глибину і ширину крипт, площу ядра і висоту стовпчастих епітеліоцитів ворсинок і крипт, співвідношення епітеліоцитів і келихоподібних клітин, площу келихоподібних клітин та число міжепітеліальних лімфоцитів [1].

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням загальноприйнятих методів. Достовірність різниці між порівнюваними величинами визначали за допомогою критерію Стьюдента [9], визначали кореляцію в програмному середовищі SPSS 10.0.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Протягом 14-ти діб ми досліджували наявність зв'язку між змінами концентрації в крові імуноглобулінів та ЦІК. Встановлено наявність достовірного ($p < 0,05$) сильного зв'язку (коефіцієнт кореляції $R = 0,963$) між ЦІК та Іg G у сироватці крові. Цей зв'язок, очевидно, пояснюється тим, що імуноглобуліни класу G більшою мірою, ніж інші імуноглобуліни, беруть участь в утворенні ЦІК. Наші припущення також підтверджуються результатами досліджень інших авторів [3, 8].

Високий, але недостатньо достовірний зв'язок виявлено між Іg A і ЦІК ($R = 0,949$). Тісний зв'язок відзначено також між Іg A й Іg M ($R = 0,944$). Дещо слабший зв'язок (середньої сили) встановлено між Іg M і ЦІК ($R = 0,805$) та Іg A й Іg G. Ще слабший зв'язок, але теж середньої сили, виявлено між Іg M і Іg G ($R = 0,676$). Очевидно, в останньому випадку сила зв'язку між цими факторами залежить ще від якихось не вивчених на сьогодні, а тому не врахованих нами при проведенні статистичних досліджень механізмів взаємодії.

В цілому наявність вказаних зв'язків свідчить про те, що всі ці ланки імунної системи тісно між собою пов'язані й стереотипно реагують на присутність солей алюмінію в організмі.

Ми досліджували наявність зв'язку між змінами кутів галужень протягом двох тижнів у артеріях першого, другого та третього порядків. В усіх трьох випадках встановлено наявність достовірної сильної кореляції. Так, коефіцієнт кореляції між змінами кутів галужень у судинах першого та другого порядків склав ($R = 0,996$), другого і третього порядків – ($R = 0,995$), першого та третього порядків – ($R = 0,986$). Для усіх трьох випадків $p < 0,01$. Отримані результати свідчать про те, що зміни

в судинах усіх рівнів відбувалися одночасно й ідентично.

Статистичний аналіз показав, що проліферативні процеси в судинах пов'язані з утворенням ЦІК та Іg G. Наші припущення підтверджуються результатами аналогічних досліджень інших авторів, які вказують на виражені зміни між мембранними порушеннями клітин ендотелію судин і рівнем ЦІК, а отже, на високу залежність між вираженням запальної реакції та аутоімунними процесами в тонкій кишці [2, 7].

Ми встановили порушення виведення ЦІК з організму, що сприяло тривалій їх циркуляції в кров'яному руслі й, відповідно, створювало умови для їх пошкоджувальної дії на тканини. У зв'язку з підвищеною концентрацією імунних комплексів у кров'яному руслі, можливе їх функціональне перевантаження, а також порушення функціонування епітеліальних клітин, на що звертає увагу ряд авторів. Таким чином, з огляду на дані літератури і беручи до уваги результати наших досліджень, можна стверджувати, що між впливом хлориду алюмінію на тонку кишку та реакцією імунної системи існують тісні зв'язки [2, 4].

Коефіцієнти кореляції між ЦІК та кутами судинних галужень першого, другого і третього порядків склали, відповідно $R_1 = -0,924$, $R_2 = -0,927$, $R_3 = -0,929$, а між Іg G та кутами судинних галужень першого, другого і третього порядків – $R_1 = -0,764$, $R_2 = -0,765$, $R_3 = -0,765$. Усі випадки статистично достовірні ($p < 0,05$). Наявність зворотної залежності (зниження концентрації імунокомплексів та Іg G) і зростання розгалуженості судин свідчить про те, що дані процеси відтерміновані у часі. Найімовірніше, це пов'язано зі зміною гемодинамічного тиску в судинах при посиленні периваскулярних запальних процесів, на що вказує зростання ЦІК та Іg G у крові. Очевидно, ЦІК і, можливо, Іg G є пусковими механізмами процесів, що призводять з часом до анатомічних змін у судинах. Аналогічні результати отримані іншими авторами, які досліджували залежність між запальними процесами в різних тканинах та утворенням ЦІК й Іg G [2, 4, 7]. Хоча остаточні висновки з такого питання можна було б зробити лише після детального вивчення даних процесів, однак на даному етапі це не є предметом наших досліджень.

Статистичний аналіз показав наявність у контрольній групі зв'язку ($R = -0,965$) між товщиною м'язової оболонки та висотою ворсинок ($R = 0,735$), між глибиною крипт і висотою ворсинок ($R = -0,605$). Разом із тим, протягом 1–14 діб в експериментальних тварин ці залежності відсутні. Отримані результати дають

підстави припускати, що з 1-ї до 14-ї доби експерименту продовжуються деструктивні процеси, а процес відновлення за цей період не завершується.

В умовах нашого дослідю змінювалась структура клітин епітеліальної пластинки слизової оболонки порожньої кишки – стовпчастих епітеліоцитів. Реактивні зміни слизової оболонки представлені ворсинками, строми яких були потовщені, спостерігали їх деформацію та набряк. Стовпчасті епітеліоцити на верхівці ворсинки злущувались і були змінені за формою (рис. 1).

Біля змінених клітин виявляли лімфоцити. Спостерігали гетероморфність ендоплазматичної сітки: цистерни плоскі, подекуди можна було побачити вакуолі трохи збільшених розмірів, каналці розширені. Компоненти комплексу Гольджі виглядали набряклими, цистерни диктіосом сплюснені, вакуолі траплялися в невеликій кількості. Судини слизової, підслизової та м'язової оболонок були розширені і переповнені кров'ю, в них спостерігали стази формених елементів крові (рис. 2).

Морфометричні показники тонкої кишки показали, що при отруєнні білих щурів хлоридом алюмінію в досліджуваному органі збільшувалася товщина стінки порожньої та клубової кишок за рахунок зростання показників слизової з підслизовою основою та м'язової оболонок. Підтвердженням цього є статистично достовірне ($p < 0,001$) зростання середньої величини довжини ворсинок експериментальних тварин на 7-му добу після введення хлориду алюмінію: відповідно, на 26,2 % у порожній кишці, що становило $(467,4 \pm 9,8)$ мкм, і на 27,9 %

у клубовій, що складало $(327,6 \pm 4,2)$ мкм порівняно з тваринами контрольної групи. Глибина крипт порожньої кишки уражених білих щурів уже на 1-шу добу після отруєння зменшилася на 8,9 % і дорівнювала $(162,9 \pm 2,5)$ мкм, у клубовій кишці дана величина становила $(167,7 \pm 1,4)$ мкм, що також було на 9,1 % нижчим порівняно з цим же параметром в неуражених тварин. Величина ширини крипт у порожній кишці білих щурів на 1-шу добу після отруєння складала $(34,3 \pm 0,9)$ мкм, на 4-ту – $(37,6 \pm 1,1)$ мкм, на 7-му – $(46,2 \pm 1,1)$ мкм, а на 14-ту добу експерименту було виявлено незначне зниження даного показника до $(39,2 \pm 1,2)$ мкм. Таку ж тенденцію спостерігали і при дослідженні ширини крипт клубової кишки експериментальних тварин.

Цитоморфометричні показники підтверджували динаміку морфометричних змін і зберігали ту ж тенденцію до зростання. Так, висота стовпчастих епітеліоцитів ворсинок досліджуваних органів білих щурів за даних умов патології збільшувалася і на 14-ту добу експерименту в порожній кишці становила $(25,2 \pm 0,2)$ мкм, що було вищим на 30 % від аналогічного показника в контрольній групі, а в клубовій цей показник був вищим на 73 % і складав $(31,5 \pm 1,1)$ мкм. Хоча в загальному помітна тенденція до відновлення показників на 14-ту добу, але морфологічний аналіз свідчить про те, що цей процес не завершений і продовжує тривати. Виявлено диспропорційне та нерівномірне збільшення площі ядер епітеліоцитів та крипт, яке вказувало на істотні порушення в цих клітинах. Величина площі ядра епітеліоцитів ворсинок у порожній кишці

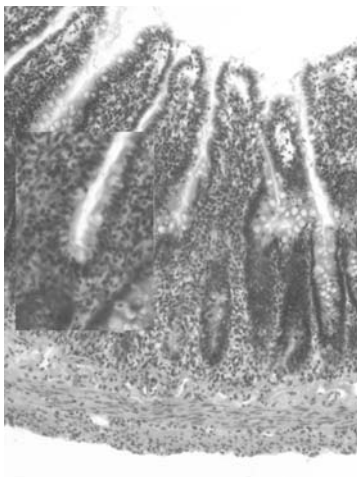


Рис. 1. Мікроскопічні зміни слизової оболонки клубової кишки білого щура на 4-ту добу після отруєння хлоридом алюмінію. Інфільтрація клітинними елементами всіх оболонок клубової кишки. Забарвлення гематоксиліном-еозином. $\times 100$.

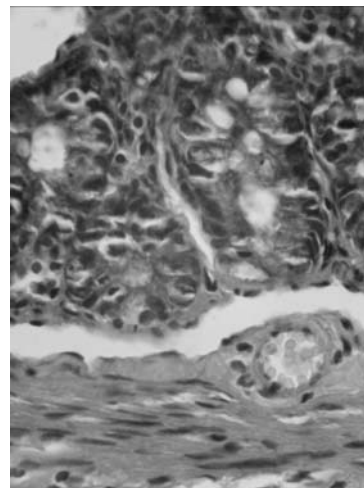


Рис. 2. Мікроскопічні зміни слизової оболонки порожньої кишки на 4-ту добу. Потовщення і деформація крипт слизової оболонки, розширені переповнені кров'ю судини. Забарвлення гематоксиліном-еозином. $\times 400$.

експериментальних тварин у динаміці мала такий вигляд: на 1-шу добу від початку експерименту вона становила $(30,4 \pm 0,8)$ мкм², на 4-ту – $(33,3 \pm 1,1)$ мкм², на 7-му – $(31,9 \pm 1,2)$ мкм², на 14-ту – $(29,8 \pm 0,8)$ мкм². Аналогічну тенденцію було виявлено і при дослідженні цього параметра в клубовій кишці отруєних білих щурів. За даних умов патології вже на 1-шу добу після отруєння зростала величина площі келихоподібних клітин у ворсинці як у порожній кишці й становила $(79,4 \pm 1,9)$ мкм², так і в клубовій – $(78,7 \pm 2,3)$ мкм² ($p < 0,001$). Статистично достовірне збільшення цього показника в піддослідних тварин спостерігали і в наступні дні експерименту, яке найвищим було на 7-му добу після отруєння. У порожній кишці він складав $(83,4 \pm 2,3)$ мкм², а в клубовій – $(87,2 \pm 2,6)$ мкм².

Результати проведених нами досліджень свідчать про вплив хлориду алюмінію на імунологічні показники крові та морфоструктуру тонкої кишки і можуть слугувати основою на-

ступних експериментів з використанням фармакологічних засобів для досягнення повної корекції структурно-функціональних розладів у тканинах порожньої та клубової кишок після дії вищевказаного токсиканта.

ВИСНОВКИ. Встановлено, що при експериментальному ураженні білих щурів хлоридом алюмінію достовірна наявність кореляційного зв'язку в динаміці між імуноглобулінами та ЦІК, найімовірніше, пояснюється активністю імунних реакцій, що вказують на зміни клітин ендотелію судин, а отже, на високу залежність між вираженням запальної реакції та аутоімунними процесами в антигенозалежних органах і тканинах тварин. Даний зв'язок підтверджується морфологічною перебудовою порожньої та клубової кишок, а саме збільшується товщина м'язової оболонки та слизової з підслизовою основою тонкої кишки, що зумовлено набряком і судинними розладами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 2002. – 240 с.

2. Білозоров О. П. Циркулюючі імунні комплекси і дослідження антигенного впливу при алергодерматозах, псоріазі і хламідіозах : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук / О. П. Білозоров. – К., 2003. – 40 с.

3. Бойчук А. В. Діагностика і лікування запальних захворювань матки та її придатків в залежності від стану гормональної, імунної та антиоксидантної системи організму : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук / А. В. Бойчук. – К., 2001 – 44 с.

4. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – К. : Полиграф плюс, 2006. – 481 с.

5. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.

6. Кожем'якін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов. – К. : Авіцена, 2002. – 155 с.

7. Кравців Ю. Р. Імунітет слизових оболонок кишечника тварин / Ю. Р. Кравців, Р. П. Масляк // Науковий вісник ЛНУВМ та БТ. – 2009. – 11 (41). – С. 134–140.

8. Крушевський В. Д. Співвідношення вмісту та розміру циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові при експериментальному токсичному,

пиловому та токсикопиловому бронхіті у щурів / В. Д. Крушевський, В. А. Стежка // Укр. журн. з проблем медицини праці. – 2009. – № 1 (17).

9. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2001. – 408 с.

10. Лоренко С. В. Кількісне визначення імуноглобулінів біохімічним методом / С. В. Лоренко, О. Б. Кравченко // Акушерство і гінекологія. – 1972. – № 6. – С. 26–29.

11. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення) : монографія / [М. В. Погорелов, В. І. Бумейстер, Г. Ф. Ткач та ін.]. – Суми : Вид-во СумДУ, 2010. – 147 с.

12. Основні наукові дослідження за останні роки та перспективи розвитку імунотоксикологічних досліджень у гігієні / О. І. Винарська, Н. О. Ніконова, Л. Є. Григоренко, С. В. Лук'ячук // Довкілля та здоров'я. – 2006. – № 3. – С. 28–32.

13. Пат. 59446 UA, МПК G09B 23/28, A61K 33/06. Спосіб моделювання токсичного ураження тонкої кишки алюмінію хлоридом / Котляренко Л. Т., Ярема О. М., Гнатюк М. С. – 201015005 ; заявл. 13.12.10 ; опубл. 10.05.11, Бюл. № 9.

14. Чернушенко Е. Ф. Иммунологические методы исследования в клинике / Е. Ф. Чернушенко, Л. С. Когосова. – К. : Здоров'я, 1978. – 159 с.

15. Шошенко К. А. Архитектоника кровеносного русла / К. А. Шошенко, А. С. Голуб, В. И. Брод. – Новосибирск : Наука, 1982. – 123 с.

16. Gleichmann H. Mechanisms of autoimmunity / H. Gleichmann, E. Gleichmann // Immunotoxicology (Ed.A.Berlin e.a.). – Martinus Nijhoff Publishers, 1987.– P. 39–60.

17. Hewitt C. D. Aspects of aluminium toxicity /

C. D. Hewitt, J. Savory, M. R. Wills / Clin. Lab. Med. – 1990. – **10**. – P. 403 – 422.

18. Morley J. Lung reactions to environmental chemicals / J. Morley // Immunotoxicology (Ed.A.Berlin e.a.). Martinus Nijhoff Publishers, 1987.– P. 473–481.

О. М. Ярема

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОРАЖЕНИИ ОРГАНИЗМА ХЛОРИДОМ АЛЮМИНИЯ

Резюме

В условиях экспериментального поражения тонкой кишки хлоридом алюминия проведены иммунологические, морфологические и морфометрические исследования, которые указывают на наличие корреляции между циркулирующими иммунными комплексами, иммуноглобулинами классов А, М, G и показателями угла ветвления сосудов тощей и подвздошной кишок на 1-е, 4-е, 7-е и 14-е сутки после отравления. Количественным подтверждением токсического действия хлорида алюминия являются структурная перестройка артерий, утолщение стенки сосудов и сужение их просвета, инфильтративные и деструктивные изменения в оболочках исследуемых отделов, указывающие на существенное поражение цитоархитектоники тонкой кишки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: циркулирующие иммунные комплексы, иммуноглобулины, белые крысы, алюминия хлорид, морфология, тонкая кишка.

О. М. Yarema

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

MODIFICATION IN THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL STATE OF THE SMALL INTESTINE AT EXPERIMENTAL LESION WITH ALUMINUM CHLORIDE

Summary

According to the experimental lesion of the small intestine with aluminum chloride there were conducted the immunological, morphological and morphometric studies that indicate the existence of correlation between circulating immune complexes, immunoglobulin A, M, G and indicators of vessel angle branching of empty intestine and ileum on the first, fourth, seventh and fourteenth day after the poisoning. Quantitative verification of toxic action of aluminum chloride is restructuring of arteries, thickening of the vascular wall and narrowing of the lumen, infiltrative and destructive changes in the membranes of the studied sections, indicating substantial destruction of the small intestine.

KEY WORDS: circulatory immune complexes, immunoglobulins, white rats, aluminum chloride, morphology, small intestine.

Отримано 18.12.12i

Адреса для листування: О. М. Ярема, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: aksenia.82@mail.ru.