

© Бурега Ю.О.

УДК 611.314-018.53: [547.963:634.58]].08+616.314.17-018.53-053.13-097.1--092.9]:599.323.4

Бурега Ю.О.

ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ ЛІМФОЦИТІВ З РЕЦЕПТОРАМИ ДО ЛЕКТИНУ АРАХІСУ В СТРУКТУРАХ ПЕРІОДОНТУ ЩУРІВ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ АНТИГЕННОЇ ДІЇ

Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя)

axios.ua@gmail.com

Робота є фрагментом НДР кафедри анатомії людини, оперативної хірургії і топографічної анатомії і кафедри гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету «Лектингістохімічна характеристика морфогенезу органів і тканин в ранньому постнатальному періоді в нормі і експерименті» (2008-2013, № держ. реєстрації 0109U 003986).

Вступ. Лімфоцити є одним з головних факторів морфогенезу. Зміна рецепторного репертуару лімфоцитів, що викликається антигенним впливом у внутрішньоутробному періоді розвитку, впливає на процеси становлення органів і тканин організму після народження. Порушення процесів проліферації, диференціювання, міграції лімфоцитів після внутрішньоутробного введення антигенів різної природи, призводить до заселення периферійних лімфоїдних органів імунологічно незрілими PNA+лімфоцитів. Функціональна активність імунологічно незрілих PNA+лімфоцитів викликає зміну функціонування, дисбаланс формування клітин мікрооточення, синтезу міжклітинної речовини, волокон екстрацелюлярного матриксу, що призводить до порушення морфофункціонального стану органів в цілому [2]. Встановлені зміни є малими стигмами синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини, що виходить в даний час на одне з перших місць у структурі загальної захворюваності населення [2]. Порушення константи балансу між субпопуляціями Т-лімфоцитів є важливою особливістю системних аутоімунних захворювань та може, також, сприяти їх розвитку. Співвідношення вищезгаданих параметрів дає можливість визначення стадії та ступеня прогресування процесу при недиференційованих захворюваннях сполучної тканини та використовуватись для ранньої діагностики розвитку даних станів [7]. В етіопатогенезі захворювань пародонту безпосередню участь приймає аутоімунна відповідь. Активація та збільшення популяції аутореактивних Т-лімфоцитів є критичним кроком в розвитку аутоімунного ураження пародонту. Лімфоцити відіграють важливу роль, як необхідний компонент в прогресуван-

ні пародонтопатій [5,6]. Даним дослідженням було вивчено особливості розподілу PNA+лімфоцитів в структурах пародонту, в якості можливого підґрунтя для виникнення порушень пародонту, як прояву синдрому недиференційованої дисплазії сполучної тканини.

Мета дослідження. Встановити особливості розподілу лімфоцитів з рецепторами до лектину арахісу в структурах пародонту щурів в нормі та після внутрішньоутробної антигенної дії.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводились на 224 щелепах 112 білих лабораторних щурів. Утримання тварин та експерименти проводились відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Тварини були розділені на 3 групи: 1 група – інтактні щури, 2 група – щури, яким на 18-ту добу плідного розвитку введено 0,05 мл розчину антигену в навколплідні води, 3 група – контрольна, тваринам якої на 18-ту добу плідного розвитку виконано навколплідне введення 0,9% розчину хлориду натрію. Для вивчення особливостей морфогенезу структур пародонту, на тлі дії антигену на плід обрано модель черезоболонкового, черезоболонкового введення антигену в навколплідні води за методом М.А. Волошина (2011). В якості антигену було обрано спліт-вакцину Vaxigrip для профілактики грипу, інактивовану, рідку. Забій тварин здійснювали на 1-шу, 5-ту, 7-му, 11-ту, 14-ту, 30-ту, 45-ту добу постнатального життя. Фрагменти щелеп брали на рівні молярів. Виявлення лімфоцитів з вуглеводними залишками β -D-галактози (Gal) (PNA+лімфоцитів) проводили із застосуванням лектину арахісу (PNA), використовуючи стандартний набір лектинів НВК «Лектинтест» (м. Львів). Візуалізацію ділянок зв'язування лектинів проводили у системі діамінобензидин-перекис водню. Приготування

розчинів та проведення лектингістохімічних реакцій виконували, керуючись відповідними джерелами [1].

Підрахунок кількості PNA+лімфоцитів в структурах періодонту проводили за допомогою модифікованої окулярної сітки Глаголева на умовній одиниці площі з перерахуванням отриманих даних на 5000 мкм². Збільшення мікроскопа – (ок. 10, об 100). Обробку отриманих числових результатів проводили за допомогою статистичних методів з використанням комп'ютерної програми STATISTICA® for Windows 6.1 (StatSoft Inc., США, № ліцензії AXXR712D833214FAN5). Порівнювані результати вважали достовірними при $p < 0,05$, що є загальноприйнятим для біологічних і медичних досліджень.

Результати досліджень та їх обговорення.

PNA+лімфоцити зустрічаються серед фібробластів та фіброцитів періодонтального простору. Це клітини округлої форми, з вираженою зоною перичитоплазматичного просвітлення та відкладенням бензидинової мітки на плазматичній мембрані у вигляді коричневого забарвлення. PNA+лімфоцити мають фенотипові ознаки малих лімфоцитів.

На 1-шу добу після народження у тварин інтактної групи кількість лімфоцитів з рецепторами до лектину арахісу налічує $2,3 \pm 0,08$ на 5000 мкм² періодонтального простору. У антигенпреміюваних тварин вміст PNA+лімфоцитів в періодонті вірогідно більший, порівняно з тваринами інтактної групи, та становить $3,1 \pm 0,39$ на 5000 мкм². Показники інтактної групи достовірно не відрізняються від результатів групи контролю (рис.). Надалі в тексті ці терміни вживаються як синоніми.

На 5-ту добу життя в групі контролю кількість PNA+лімфоцитів в періодонтальному просторі збільшується, відносно попереднього терміну спостереження. В групі вакцинпреміюваних тварин кількість

малих лімфоцитів з залишками β -D-галактози залишається статистично вірогідно більшою ($3,7 \pm 0,1$) в порівнянні з показниками тварин інтактної групи ($2,6 \pm 0,1$).

На 7-му добу післянатального розвитку кількість лімфоцитів з рецепторами до лектину арахісу у всіх досліджуваних групах сягає максимуму протягом експерименту. У антигенпреміюваних тварин їх вміст залишається більшим ($4,2 \pm 0,09$) відносно групи контролю ($3,3 \pm 0,11$, $p < 0,05$).

На 11-ту добу життя у інтактних тварин серед клітин періодонтального простору спостерігається зменшення кількості PNA+лімфоцитів, вміст яких становить $2,2 \pm 0,08$ на умовну одиницю площі. В групі експериментальних тварин їх кількість залишається більшою, відносно результатів групи контролю, і складає $2,5 \pm 0,03$ на умовну одиницю площі.

На 14-ту добу післянатального життя в періодонті інтактних тварин кількість PNA+лімфоцитів зменшена порівняно з попереднім терміном спостереження (рис.). В групі антигенпреміюваних тварин їх частка залишається більшою, відповідно показників групи контролю ($1,9 \pm 0,07$ відносно $1,7 \pm 0,13$). Тенденція до зменшення кількості PNA+лімфоцитів спостерігається до закінчення експерименту (рис.).

На 30-ту добу життя вміст PNA+лімфоцитів в групі вакцинпреміюваних тварин знижується до $1,2 \pm 0,09$. Результати отримані в групі експериментальних тварин достовірно не відрізняються від показників в групі контролю.

На 45-ту добу зберігається тенденція до зменшення кількості лімфоцитів з рецепторами до лектину арахісу в періодонті щурів всіх піддослідних груп. Дані статистично не відрізняються у всіх групах спостереження (рис.).

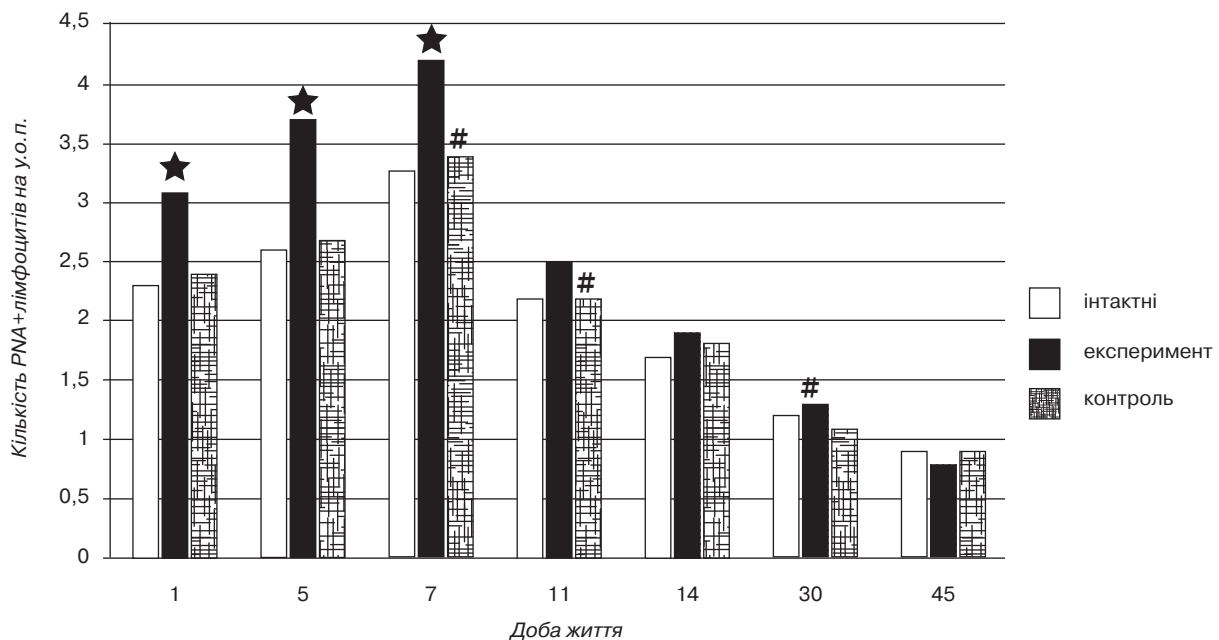


Рис. Динаміка розподілу PNA+лімфоцитів в структурах періодонту на умовній одиниці площі (5000 мкм²) в залежності від віку та групи спостереження.

Примітка: ★ – результат достовірний в порівнянні з інтактною групою;
– результат достовірний в порівнянні з попереднім терміном спостереження.

Таким чином, динаміка чисельності PNA+лімфоцитів в структурах періодонту щурів має хвилеподібний характер. з періоду новонародженості до 7-ї доби післянатального життя відмічається збільшення вмісту PNA+лімфоцитів. Проте, в групі антигенпреміюваних тварин їх кількість достовірно вища ($4,2 \pm 0,1$, $p < 0,05$) порівняно з тваринами інтактної групи. з 11-ї до 14-ї доби післянатального розвитку у сполучній тканині періодонтального простору виявляється різке зменшення вмісту PNA+лімфоцитів у всіх групах тварин, але у вакцинпреміюваних тварин кількість PNA+лімфоцитів залишається дещо вищою. до 45-ї доби життя тварин, включно, в періодонті, зберігається тенденція поступового зниження кількості лімфоцитів із залишками β -D-галактози. Вміст PNA+лімфоцитів на момент закінчення експерименту в усіх групах щурів не відрізняється, та не перевищує показників фізіологічної норми. Схожа динаміка розподілу PNA+лімфоцитів в сполучній тканині була описана раніше в роботах

О.А. Григор'євої (2008), О.Г. Куш (2011), Т.М. Матвейшиної (2011), А.В. Федотченка (2012), і підтверджує роль лімфоцитів в морфогенезі органів.

Висновки.

У новонароджених тварин, після внутрішньоутробної дії антигенів встановлено достовірно збільшений вміст PNA+лімфоцитів в сполучній тканині періодонту порівняно з групою контролю.

Збільшена кількість PNA+лімфоцитів структурах періодонту антигенпреміюваних тварин сягає максимуму на 7-му та зберігається до 14-ї доби післянатального розвитку.

На 45-ту добу життя тварин у періодонті, кількість PNA+лімфоцитів в усіх групах щурів не відрізняється, та не перевищує показників фізіологічної норми.

Перспективи подальших досліджень. В наших подальших дослідженнях планується вивчення особливостей розподілу різних вуглеводних детермінант клітин структур періодонтального простору щурів на фоні антигенної дії в антенатальному періоді.

Література

1. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела / В. О. Антонюк. – Львів : ПП «Кварт», 2005. – 554 с.
2. Волошин Н.А. Морфологические аспекты развития синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева // Материалы II Всеукраинской научной морфологической конференции. – Днепропетровск, 2005. – С. 93.
3. Волошин Н.А. Экспериментальная модель развития синдрома недифференцированной соединительной ткани / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева // Патология. – 2009. – Т. 6, № 1. – С. 39-42.
4. Волошин М. А. Динаміка PNA⁺ та SBA⁺ лімфоцитів в слизовій оболонці глотки щурів в постнатальному періоді після внутрішньоутробної дії антигена / М. А. Волошин, Т. М. Матвейшина // Укр. Мед. альманах. – 2012. – Т. 15, № 5 (додаток). – С. 60-62.
5. Ali J. Autoimmune responses in periodontal diseases / J. Ali, K. Pramod, M.A. Tahir [et al.] // 2011. – Vol. 10, № 7. – P. 426-431. Doi : 10.1016/j.autrev.2010.04.005. Epub 2011 Jan 20.
6. Soumya Nair. Role of Autoimmune Responses in Periodontal Disease / Nair Soumya, Faizuddin Mohamed, Dharmapalan Jayanthi // Autoimmune Dis. - 2014. – Published online 2014 doi: 10.1155/2014/596824.
7. Szodoray P. Altered Th17 cells and Th17/regulatory T-cell ratios indicate the subsequent conversion from undifferentiated connective tissue disease to definitive systemic autoimmune disorders / P. Szodoray, B. Nakken, S. Barath [et al.] // Hum. Immunol. – 2013. – № 74 (12). Doi : 10.1016/j.humimm.2013.08.003. Epub 2013 Aug 20.

УДК 611.314-018.53: [547.963:634.58].08+616.314.17-018.53-053.13-097.1--092.9]:599.323.4

ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ ЛІМФОЦИТІВ З РЕЦЕПТОРАМИ ДО ЛЕКТИНУ АРАХІСУ В СТРУКТУРАХ ПЕРІОДОНТУ ЩУРІВ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ АНТИГЕННОЇ ДІЇ

Бурега Ю.О.

Резюме. з періоду новонародженості до 7-ї доби післянатального життя відмічається збільшення вмісту PNA+лімфоцитів. В групі антигенпреміюваних тварин їх кількість достовірно вища порівняно з тваринами інтактної групи. з 11-ї до 14-ї доби післянатального розвитку у сполучній тканині періодонтального простору виявляється різке зменшення вмісту PNA+лімфоцитів у всіх групах тварин, але у вакцинпреміюваних тварин кількість PNA+лімфоцитів залишається дещо вищою. до 45-ї доби життя тварин, включно, в періодонті, зберігається тенденція поступового зниження кількості лімфоцитів із залишками β -D-галактози. Вміст PNA+лімфоцитів на момент закінчення експерименту в усіх групах щурів не відрізняється, та не перевищує показників фізіологічної норми.

Ключові слова: періодонт, сполучна тканина, лімфоцит, лектин арахісу, щурі.

УДК 611.314-018.53: [547.963:634.58].08+616.314.17-018.53-053.13-097.1--092.9]:599.323.4

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИМФОЦИТОВ С РЕЦЕПТОРАМИ К ЛЕКТИНУ АРАХИСА В СТРУКТУРАХ ПЕРИОДОНТА КРЫС В НОРМЕ И ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО АНТИГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ

Бурега Ю.А.

Резюме. С периода новорожденности до 7-х суток постнатального развития отмечается увеличение количества PNA+лимфоцитов. В группе антигенпремированных животных их количество достоверно выше по сравнению с показателями интактной группы. С 11-х до 14-х суток постнатального развития в соединительной ткани периодонтального пространства наблюдается резкое уменьшение содержания PNA+лимфоцитов во всех группах животных, но у вакцинпремированных животных количество PNA+лимфоцитов остается несколько выше. К 45-м суткам жизни животных включительно, в периодонте, сохраняется тенденция постепенного снижения

количества лимфоцитов с остатками β -D- галактозы. Количество PNA+лимфоцитов на момент окончания эксперимента во всех группах крыс не отличается и не превышает показателей физиологической нормы.

Ключевые слова: периодонт, соединительная ткань, лимфоцит, лектин арахиса, крысы.

UDC 611.314-018.53: [547.963:634.58]].08+616.314.17-018.53-053.13-097.1-092.9]:599.323.4

Features of Distribution of Lymphocytes with Receptors to Peanuts Agglutinin in Periodontal Structures of Rats in Norm and after Intrauterine Antigenic Action

Burega Yu.

Abstract. Lymphocytes is the main factor of morphogenesis. The change of lymphocytes' receptor repertory, that inducing by antigenic action in the fetal period of formation, influence to the organs and development of organism tissues after birth. Disorders in the proliferation, differentiation and migration processes of lymphocytes after intrauterine injection of various nature antigens, leads to population of immunological immature PNA+lymphocytes in peripheral lymphoid organs. Functional activity of immunological immature PNA+lymphocytes inducing the change in functioning, imbalance in formation cells of microenvironment, synthesis of intracellular substance and the fibers of extracellular matrix, that leads to violation of organs' morph-functional condition, generally.

Objective. To determine the features of distribution of lymphocytes with to peanut agglutinin in periodontal structures of rats in norm and after intrauterine antigenic action.

Methods. The object of the research was 224 jaws of 112 white laboratory rats. The rats divided into three groups. First group is intact rats. Second group is rats, which were introduced 0,05 ml solution of antigen in the amniotic fluid on the 18th day of pregnancy by the method of N. Voloshyn, the third group – control, the animals were introduced intrauterine 0,05 ml of physiological solution on the 18th day of pregnancy. For the study of peculiarities of PNA+lymphocytes content in the periodontal structures after antigen's action on the fetus, chosen the model of transuterine, transmembrane introduction of antigen in amniotic waters by the method of N. Voloshyn. The antigen was rare (killed) split - vaccine Vaxigrip 2009. The animals' killing and taking of the material done from 13-00 till 14-00 on the 1st, 5th, 7th, 11th, 14th, 30th, 45th day of postnatal life. For the investigation, the jaw specimens with in the area of the molars used during some minutes after killing. The sugar residues determination of β -D-galactose investigated using the standard method through peanut agglutinin (PNA) using the standard kit of NPVK "LectinTest", Lviv. For visualization was used 3.3'-diaminobenzidine – hydrogen peroxide system as the staining agent. The PNA+lymphocytes quantities counted per notional area unit through A. Glagolev's modified ocular grid with the findings recalculation per 5000 μm^2 (1000 magnifications). Processing of the obtained numerical results conducted through statistical methods – STATISTICA® for Windows 6.1 (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). The results were evaluated at the $p < 0,05$ significance level.

Results. In the rat periodontal structures observed undulating dynamics of PNA+lymphocytes distribution. From newborn period to the 7th day of postnatal formation detected the increase quantity of PNA+lymphocytes. In antigen-premium animals group its quantity is significantly higher ($4,2 \pm 0,1$, $p < 0,05$) compared indicators of intact group. From 11th to 14th day of postnatal life in the connective tissue of periodontal space observed an abrupt decrease of PNA+lymphocytes content in all animals groups, but in antigenpremium animals the quantity of PNA+lymphocytes remains slightly higher. To the 45th day of animals life inclusively, in the periodontal space saving the tendency of gradual decrease of lymphocytes with β -D-galactose receptors. The quantity of PNA+lymphocytes at the end of experiment in all rats groups does not differ and does not exceed the physiological norm.

Keywords: periodontium, connective tissue, lymphocyte, peanut agglutinin, rat.

Рецензент – проф. Костиленко Ю.П.

Стаття надійшла 13.08.2015 р.