

Н.В.Грiнiвeцькa

Запорiзький державний
медицнний унiверситет

Ключовi слова: пiдш-
лункова залоза, глiкоп-
ротейни, антигенний
вплив.

Надiйшла: 12.02.2014

Прийнята: 07.03.2014

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2014.1.30-34>

УДК 611.37:577.112.85 [053.31 [616-097.1: 616-053.13]]-092.9

ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ ГЛІКОПРО- ТЕЇНІВ В СТРУКТУРАХ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ НОВОНАРОДЖЕНИХ ЩУРІВ ПІ- СЛЯ АНТЕНАТАЛЬНОГО АНТИГЕННОГО ВПЛИВУ

Реферат. Порушення процесів травлення і всмоктування є найбільш поширеними синдромами при захворюваннях органів травлення у дітей. Екзокринна частина підшлункової залози чутлива до різноманітних факторів, у тому числі до вірусів, що обумовлює актуальність дослідження морфологічних змін органу в умовах антигенного навантаження. У антигенпремійованих тварин, виявлено зменшення накопичення глікопротеїнів в цитоплазмі ациноцитів, що може бути причиною схильності до ферментопатій та харчової алергії.

Morphologia. – 2014. – Т. 8, № 1. – С. 30-34.

© Н.В.Грiнiвeцькa, 2014

Grinivetska N.V. Features of glycoproteins distribution in the pancreatic structures of newborn rats after prenatal antigenic influence.

ABSTRACT. Background. Abnormalities of digestion and absorption are the most common syndromes associated with the digestive system diseases in children. Pancreatic enzyme failure leads to violation of different metabolic processes, especially in neonates. Exocrine pancreas is sensitive to a variety of factors, including virus. It emphasizes the importance of investigation of pancreatic secretory activity in children who was born from mothers exposed to viral infection during pregnancy. **Objective.** The purpose is to determine the features of glycoproteins distribution in the pancreatic structures of newborn rats after prenatal antigenic influence. **Methods.** Animals were divided into four groups: the 1st – intact, the 2nd – intrafetal injection of the antigen, the 3rd – animals administered with antigen into the amniotic fluid, and the 4th group – control (intrafetal injection of a normal salt solution). As antigen we used Vaxigrip vaccine. **Results.** It was revealed that on the 14th day after birth antigen-exposed animals were characterized by the increase of glycoproteins (++) in a connective tissue capsule of pancreas and decreased content of glycoproteins in the cytoplasm of acinar cells and ducts comparing with the intact group (+++/+). Taken together this data evidence the reduction of the synthetic activity of acinar cells after intrafetal administration of the antigen. This may cause a predisposition for the development of dyspepsia and food allergy. Further work is planned to investigate the dynamics of glycosaminoglycans redistribution in different parts of pancreas after prenatal antigenic administrations.

Key words: pancreas, glycoproteins, antigen.

Citation:

Grinivetska NV. [Features of glycoproteins distribution in the pancreatic structures of newborn rats after prenatal antigenic influence]. *Morphologia.* 2014;8(1):30-4. Ukrainian.

Вступ

Порушення процесів травлення та всмоктування є найбільш поширеними синдромами при захворюванні органів травної системи у дітей [1]. Розвиток розладів травлення може бути зумовлений як недостатньою продукцією ферментів підшлункової залози, так і зниженням їх активності [2; 3]. Недостатність панкреатичних ферментів веде до порушення обміну, особливо у новонароджених. Мальдігестія може бути причиною зниженої маси тіла дітей грудного віку, а в подальшому спричинити розвиток харчової алергії у дітей перших трьох років життя [4; 5].

Суттєвим компонентом секрету підшлункової залози є глікопротеїни [6], склад та розподіл

яких в цитоплазмі панкреатичних ациноцитів відображає їх функціональну здатність. Екзокринна частина є чутливою до різноманітних чинників, у тому числі вірусів, але в літературі недостатньо даних про морфологічний та метаболічний стан в структурах підшлункової залози після дії вірусів [7]. Тому актуальним питанням є вивчення секреторної активності підшлункової залози у дітей, які народжені від матерів, що перенесли вірусні захворювання під час вагітності.

Мета

Встановити особливості розподілу глікопротеїнів в структурах підшлункової залози від 1-ї до 45-ї доби життя в нормі та після антигенної дії.

Матеріали та методи

У роботі досліджена підшлункова залоза чотирьох груп білих лабораторних щурів від моменту народження до 45-ї доби життя. Перша група – інтактні щури. Друга група – лабораторні щури, яким на 18-ту добу датованої вагітності було введено у міжлопаткову область внутрішньоплідно 0,05 мл розчину антигену за методом М.А.Волошина та співавт. (2010) [8]. В якості антигену використана інактивована рідка вакцина Ваксигрип. Вакцину розводили фізіологічним розчином у співвідношенні 1:1. Третя група – щури, яким було введено 0,05 мл розчину антигену у навколоплідні води. Четверта група – контрольні щури, тварини, яким вводили в міжлопаткову область 0,05 мл фізіологічного розчину. Забій лабораторних щурів здійснювали на 1-шу, 3-ю, 7-у, 14-ту, 21-у та 45-у добу життя. У роботі з експериментальними тваринами керувалися «Європейською конвенцією по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях». Матеріал фіксували у рідині Буена, зневоднювали у висхідній батареї спиртів та хлороформів. Гістологічну обробку матеріалу проводили стандартним методом. Парафінові серійні зрізи товщиною 5-6 мкм фарбували реактивом Шиффа з дофарбуванням ядер гематоксиліном Ерліха. Для ферментативного контролю використовували розчин амілази. Кількість ШИК-позитивних речовин в зрізах оцінювали за інтенсивністю забарвлення капсули, судин, сполучної тканини, цитоплазми ациноцитів і цитоплазми протоків (++++ – бордово-червоне забарвлення, +++ – червоне, ++ – рожево-червоне, + – блідо-рожеве, 0 – відсутність забарвлення). Вміст глікогену визначали шляхом оцінки різниці між кількістю ШИК-позитивних речовин в препаратах до і після оброблення зрізів амілазою.

Результати та їх обговорення

У першу добу постнатального періоду життя у тварин інтактної групи підшлункова залоза має тонку ніжну сполучнотканинну капсулу. Паренхіма поділяється на часточки слабо виразною сполучною тканиною. У часточках ацинуса розташовані відносно нещільно. Ациноцити мають переважно неправильну форму, зустрічаються багатоядерні ацинарні клітини. Судини розташовані в сполучнотканинній стромі. Щодо розподілу ШИК-речовин, то капсула залози забарвлена в проміжний відтінок: від рожево-червоного до блідо-рожевого (++/+). Сполучна тканина має блідо-рожевий колір (+). Стінки судин мають рожево-червоне забарвлення (++). Накопичення глікопротеїнів в структурах клітин виглядає наступним чином: цитоплазма ациноцитів, як і цитоплазма клітин протоків, має рожево-червоне забарвлення (++). У новонароджених тварин контрольної групи, яким вводили внутрішньоплідно фізіологічний розчин, розподіл глікопротеїнів

усіх вищеперерахованих структур не відрізняється від даних отриманих в інтактній групі тварин.

Стосовно тварин експериментальної групи (як третьої, так і четвертої) спостерігаються відмінності у забарвленні реактивом Шиффа капсули та сполучної тканини. Капсула має рожево-червоний колір (++) . Вуглеводи сполучної тканини у антигенпреміюваних тварин забарвлені більш інтенсивно (++/+) у порівнянні з інтактними щурами. Судини ступінь забарвленості не змінюють. Цитоплазма ациноцитів та цитоплазма клітин протокового епітелію має проміжний відтінок (++/+) на відміну від тварин інтактної та контрольної груп (табл. 1).

Після попередньої обробки зрізів амілазою тільки у експериментальних тварин відбувається зниження інтенсивності забарвлення капсули, сполучної тканини, що свідчить про значний вміст глікогену у клітинах цих структур.

У цитоплазмі ациноцитів та протоків як у експериментальних, так і інтактних новонароджених тварин спостерігається однакове зниження інтенсивності забарвлення, при цьому кількість глікопротеїнів у клітинах ациноцитів інтактних тварин вище, тобто синтетична активність у експериментальних тварин знижена у порівнянні з інтактними.

Таким чином, у новонароджених щурів після внутрішньоутробного введення антигенів у сполучній тканині та капсулі спостерігається збільшення накопичення глікопротеїнів, а в цитоплазмі ациноцитів та клітинах протоків – навпаки встановили незначне зниження вмісту глікопротеїнів, що дає можливість припустити ймовірність зниження функціональної активності ациноцитів.

На третю добу життя у тварин інтактної та контрольної групи, у порівнянні з новонародженими щурами, капсула тонка, часточковість проявляється більше, що пов'язано з розвитком строми підшлункової залози. Ацинуса в часточках згруповані дещо щільніше. Відмінностей у забарвленні реактивом Шиффа капсули, сполучної тканини та судин не спостерігається. Цитоплазма ацинарних клітин та цитоплазма клітин протоків за інтенсивністю забарвлення залишається рожево-червоною як у інтактних тварин (табл. 1).

У експериментальних тварин зберігається більш інтенсивне забарвлення сполучної тканини (++/+) та капсули підшлункової залози (++) . Судини як і у попередньому терміні спостереження залишаються рожево-червоного кольору (++) . У цитоплазмі ациноцитів та епітеліальних клітин протоків кількість глікопротеїнів зменшена у порівнянні з інтактними тваринами (++/+) , як і в попередньому терміні. У контрольній групі щурів відмічається така ж сама тенденція як і для новонароджених тварин інтактної групи.

Розподіл глікопротеїдів в структурах підшлункової залози з першої по сорок п'яту добу життя після антенатального антигенного впливу

Доба життя	Групи тварин	Досліджувані структури та клітини									
		Капсула	Обробка амілазою	Сполучна тканина	Обробка амілазою	Стінка судин	Обробка амілазою	Цитоплазма ациноцитів	Обробка амілазою	Цитоплазма клітин протоків	Обробка амілазою
1	I	++/+	++/+	+	+	++	++	++	++/+	++	+++
	II	++/+	++/+	+	+	++	++	++	++/+	++	+++
	III	++	++/+	++/+	+	++	++	+++	+	++/+	+++
	IV	++	++/+	++/+	+	++	++	+++	+	++/+	+++
3	I	++/+	++/+	+	+	++	++	++	++	++	++
	II	++/+	++/+	+	+	++	++	++	++	++	++
	III	++	++/+	++/+	+	++	++/+	+++	+	++/+	+
	IV	++	++/+	++/+	+	++	++/+	+++	+	++/+	+
7	I	++/+	++/+	+	+	++	++	+++	++	++	++
	II	++/+	++/+	+	+	++	++	+++	++	++	++
	III	++	++/+	++/+	+	++	++/+	++	++/+	++/+	++/+
	IV	++	++/+	++/+	+	++	++/+	++	++/+	++/+	++/+
14	I	++/+	++/+	++/+	+	++	++/+	+++	++	++	++/+
	II	++/+	++/+	++/+	+	++	++/+	+++	++	++	++/+
	III	++	++/+	++/+	+	++	++/+	++	++/+	++	++/+
	IV	++	++/+	++/+	+	++	++/+	++	++/+	++	++/+
21	I	++/+	++/+	++/+	+++	++	++	+++	++	++	++
	II	++/+	++/+	++/+	+++	++	++	+++	++	++	++
	III	++/+	++/+	++/+	+++	++	++	+++	++/+	++	++
	IV	++/+	++/+	++/+	+++	++	++	+++	++/+	++	++
45	I	++/+	++/+	++/+	+++	++	++	+++	++	++	++
	II	++/+	++/+	++/+	+++	++	++	+++	++	++	++
	III	++/+	++/+	++/+	+++	++	++	+++	++	++	++
	IV	++/+	++/+	++/+	+++	++	++	+++	++	++	++

Примітки: Групи тварин: 1 – інтактні, 2 – контрольні, 3 – експериментальні тварини, яким вводили антиген в навколоплідні води, 4 – експериментальні тварини, яким вводили антиген внутрішньо-плідно. +++ – бордово-червоне забарвлення, ++ – рожево-червоне, + – блідно-рожеве, 0 – відсутність забарвлення. Проміжні відтінки оцінювались відповідно: ++/+++, +/+ тощо.

Ферментативний контроль доводить, що в експериментальних групах зберігається помірно зменшення інтенсивності забарвлення капсули та сполучної тканини. Судини колір не змінюють. Цитоплазма ациноцитів та протокового епітелію також має декілька знижену інтенсивність забарвлення, що підтверджує наявність амілазолабільних глікопротеїнів.

На сьому добу постнатального періоду життя у інтактних тварин зростає площа ацинусів. Вміст глікопротеїнів у капсулі, сполучній тканині, судинах, залишається на рівні попереднього терміну спостереження (табл. 1). Збільшується інтенсивність забарвлення цитоплазми ациноцитів, вона має проміжний відтінок (+++), що може бути обумовлено активізацією процесів травлення, пов'язаних з прогресуючим збіль-

шенням маси тварин. Цитоплазма клітин протокового епітелію залишається незмінною. Накопичення глікопротеїнів у контрольних тварин 7-ї доби життя в усіх досліджуваних структурах залишається на одному рівні з інтактними щурами.

В експериментальній групі тварин відмінності в інтенсивності забарвлення структур відзначаються у цитоплазмі ациноцитів, в яких вміст глікопротеїнів менше, у порівнянні з інтактною та контрольною групами. Цитоплазма клітин протоків за інтенсивністю забарвлення на рівні попереднього терміну.

Після ферментативної обробки в групі інтактних та контрольних тварин, зменшення інтенсивності забарвлення спостерігаються лише в цитоплазмі ациноцитів (табл. 1). В експериментальних тварин залишається помірно зменшеним

ступінь забарвлення капсули, сполучної тканини, стінки судин та цитоплазми ациноцитів, що підтверджує вміст глікогену в цих структурах.

На 14-ту добу життя у інтактних та контрольних тварин часточковість залози більш виразна. Кількість гліопротейнів у капсулі, сполучній тканині та стінках судин незмінена у порівнянні з попередніми термінами. Гістохімічна картина в ацинарних клітинах характеризується неоднорідністю. Більшість ациноцитів має цитоплазму бордово-червоного забарвлення (+++), деякі ациноцити мають цитоплазму рожево-червоного коліру (++). Кількість протоків збільшується на тлі збільшення функціональної активності екзокринної паренхіми. За розподілом ШИК-речовин цитоплазма протоків має проміжний відтінок від бордово-червоного забарвлення до рожево-червоного (+++/++).

В експериментальних тварин залишається дещо більший вміст гліопротейнів у капсулі підшлункової залози (++), сполучна тканина за вмістом вуглеводних речовин залишається на одному рівні з інтактними та контрольними тваринами. Цитоплазма ациноцитів характеризується меншим вмістом глікопротейнів у порівнянні з інтактними щурами та має рожево-червоний колір (++). Цитоплазма клітин протокового епітелію також рожево-червоного забарвлення (табл. 1).

У групі інтактних та контрольних щурів після попередньої дії амілази відбувається зменшення інтенсивності забарвлення цитоплазми ациноцитів, сполучної тканини та стінок судин. У групі експериментальних тварин вміст амілазо-лабільних глікопротейнів розподіляється без змін у порівнянні з попереднім терміном, зниження забарвлення виявлено також в капсулі, сполучній тканині, стінках судин. Цитоплазма ациноцитів та цитоплазма клітин протоків також мають знижену ступінь забарвлення (табл. 1).

На 21-у добу паренхіма залози виглядає повністю розвиненою. Насиченість полісахаридами капсули, сполучної тканини та судин не відрізняється від попереднього терміну спостереження в інтактній та контрольній групах. Цитоплазма ациноцитів за вмістом ШИК-речовин залишаються незміненою. Виключенням є цитоплазма клітин протоків, яка має рожево-червоне забарвлення у порівнянні з 14-добою (табл. 1).

У антигенпреміюваних тварин експресія ШИК-сполук в сполучній тканині, капсулі та судинах залишається на одному рівні з групою інтактних та контрольних тварин. В цитоплазмі ациноцитів кількість вуглеводних речовин зменшена та має рожево-червоний колір (++), у порівнянні з інтактною та контрольною групою тварин цього ж терміну. В цитоплазмі клітин протоків також декілька зменшена кількість глікопротейнів (++/+), у порівнянні з попереднім терміном спостереження.

Після обробки зрізів амілазою у тварин 21-ї

добы життя змін у інтенсивності забарвлення капсули, судин та сполучної тканини не спостерігається. Цитоплазма клітин протоків також залишається незміненою. У цитоплазмі ацинарних клітин інтенсивність забарвлення зменшується після ферментативної обробки в інтактній, контрольній та обох експериментальних групах (табл. 1).

На 45 добу життя, у інтактній та контрольній групі тварин кількість ацинусів дещо зменшується. У порівнянні з першим місяцем життя кількість протоків та судин зростає, що відображає процес становлення й розвитку органу. Забарвлення судин, сполучної тканини, та цитоплазми ациноцитів і протоків в цих групах залишається на тому ж рівні прояву забарвлення що і в попередньому терміні спостереження

У новонароджених тварин експериментальної групи, у порівнянні з інтактними, відзначається збільшення ШИК-позитивного матеріалу у капсулі та сполучній тканині від 1-ї до 14-ї доби життя. Загальне збільшення вмісту глікопротейнів у сполучній тканині експериментальних новонароджених тварин обумовлено глікогеном, що можна розцінювати як зниження енергетичного обміну в цих структурах. Отримані результати співпадають з даними М.С.Щербаков та М.Б.Вовченко (1995) про збільшений вміст глікопротейнів у сполучній тканині і стінках кровеносних судин кіркової речовини надниркових залоз щурів [9]. Збільшення вмісту ШИК-позитивного матеріалу відмічено раніше також в цитоплазмі гепатоцитів, сполучній тканині, капсулі та порталних трактов у новонароджених щурів, після внутрішньоутробного введення паротидної вакцини в якості антигену [10].

Зовсім інша картина спостерігається в цитоплазмі ациноцитів та епітелію протоків. У новонароджених плодів, яким проведено внутрішньоутробне введення антигену, відмічено зменшення вмісту глікопротейнів в цитоплазмі. Ферментативний контроль продемонстрував, що цитоплазма ациноцитів та цитоплазма клітин епітелію протоків забарвлюється менш інтенсивно і це свідчить про менший вміст глікогену у експериментальних тварин.

Зменшення глікопротейнів в цитоплазмі епітеліоцитів протоків спостерігається до 7-ї доби постнатального життя (табл. 1). На відміну від епітелію протоків, епітеліальні клітини ацинусів демонструють менший рівень накопичення глікопротейнів до 14-ї доби, що відображає зниження синтетичної активності ациноцитів.

Підсумок

За даними літератури щодо зменшення площі, яку займає паренхіма підшлункової залози [11], можливо зробити висновок, що внутрішньоплодове введення антигену призводить до зниження синтетичної активності ациноцитів, що може бути основою для розвитку диспепсії та

формування харчової алергії.

Перспективи подальших досліджень

Надалі в роботі планується вивчити динаміку змін вмісту глікозаміногліканів у структурах підшлункової залози, що дозволить описати реактивність органу в умовах внутрішньорганного антигенного навантаження, а також виявити зміни в залежності від способу введення антигену.

ктивність органу в умовах внутрішньорганного антигенного навантаження, а також виявити зміни в залежності від способу введення антигену.

Літературні джерела References

1. Riadinskaia NI, Siraziev RZ. [Histological and histochemical characteristics of pancreas of deer at the Altay]. Tsitologiya. 2008;50(8):719-24. Russian. Cited in: PubMed; PMID: 18822792.
2. Bagriy MM, Dem'yanchuk MV, Melnyk IV, Shoulepa YaO, Shoulepa RV. [Histochemical research methods for extracellular matrix of connective tissue]. Visnyk problem biologii i medycyny. 2011;1(2):248-51. Ukrainian.
3. Permiakov NK, Podolskiy AE, Titova GP. [Ultrastructural analysis of prostatic secretory cycle]. Moscow: Meditsina; 1973. 240 p. Russian.
4. Myslickij VF, Tkachuk SS, Tkachuk AV, Myslicka. [Pathogenetic basis of intrauterine infections]. Klinichna ta eksperimentalna patologiya. 2011;10(2):137-41. Ukrainian.
5. Savichev AV. [Ultrastructure of cells on the endocrine and exocrine parts in the pancreatic gland during neonatal period]. Fundamental research. 2010;(8):63-8. Russian.
6. Avtsyn AP, Strukov AP, Fuks BB. [Principles and methods for histochemical analysis in pathology]. Leningrad: Meditsina; 1971. 368 p. Russian.
7. Gubergrits NB, Belyayeva NV. [Exocrine and endocrine functions of the pancreas: one step from duet to duel]. Suchasna gastroenterologiya. 2006; (4): 18-30. Russian.
8. Voloshyn NA, Grigoryeva YeA, Kusch OG. [Intrauterine antigen stimulation as the model for organ morphogenesis study]. Morphological newsletter.2006;1-2:57-9. Russian.
9. Scherbakov MS, Vovchenko MB. [Liver and suprarenal gland morphogenesis after intrauterine antigen introduction in rats]. In: [Current issues of pharmaceutical science and practice]. Zaporizhzhia; 1995. p. 90-1. Russian.
10. Scherbakov MS, Voloshyn MA, Ivanov MYe. [Peculiarities of glycogen deposition in hepatocytes of newborn rats after intrauterine antigen introduction]. Visnyk morfologii. 1998; (2): 200-1. Russian.
11. Voloshyn MA, Grinivetska NV. [Dynamics of pancreatic structures ratio in the norm and after intrauterine introduction of viral antigens]. Ukrainskyi medychnyi almanakh. 2012;15(5). Ukrainian.

Гринивецкая Н.В. Особенности распределения гликопротеинов в структурах поджелудочной железы новорожденных крыс после антенатального антигенного влияния.

Реферат. Нарушение процессов пищеварения и всасывания – наиболее распространенные синдромы при заболеваниях органов пищеварения у детей. Экзокринная часть поджелудочной железы чувствительна к разнообразным факторам, в том числе к вирусам, что обуславливает актуальность исследований морфологических изменений в условиях антигенной нагрузки. У антигенпремированных животных выявлено уменьшение накопления гликопротеинов в цитоплазме ациноцитов, что может быть причиной склонности к ферментопатиям и пищевой аллергии.

Ключевые слова: поджелудочная железа, гликопротеины, антигенное воздействие.