

Pochtar V. N. Особенности течения процессов регенерации травмы слизистой ротовой полости крыс, развивающейся на фоне гиперчувствительности замедленного типа = Features during the process of regeneration of oral mucosa injury rats, develops on the background of delayed type hypersensitivity. Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(6):579-586. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.56699>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3645>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7
© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 25.05.2016. Revised 25.06.2016. Accepted: 28.06.2016.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ РЕГЕНЕРАЦИИ ТРАВМЫ СЛИЗИСТОЙ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ КРЫС, РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ НА ФОНЕ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА

В. Н. Почтарь

Украинский НИИ стоматологии НАМН Украины

Резюме

Автор провела экспериментальное исследование особенностей репарационных процессов слизистой щеки у 60 крыс с гиперчувствительностью замедленного типа. Результаты исследований показали, что репарационные процессы меняются по отношению к контролю: пролиферативная активность выше, а дифференциация замедлена. Одновременно снижается активность NO-синтазы в стенке сосудов и слизистой. Автор полагает, что увеличение содержания сенсibilизованных Т-лимфоцитов влияет на процессы пролиферации — дифференциации эпителиоцитов, а изменение содержания NO — нарушает деятельность сосудов, что усугубляет тяжесть патологического процесса.

Ключевые слова: гиперчувствительность замедленного типа, репарация, слизистая, NO-синтаза.

FEATURES DURING THE PROCESS OF REGENERATION OF ORAL MUCOSA INJURY RATS, DEVELOPS ON THE BACKGROUND OF DELAYED TYPE HYPERSENSITIVITY

V. N. Pochtar

Ukrainian Research Institute of Dental Academy of Medical Sciences Ukraine

The author conducted a pilot study of the peculiarities of reparative processes buccal mucosa in 60 rats with delayed-type hypersensitivity. The results showed that the repair processes are changing in relation to the control: higher proliferative activity and differentiation of slowing down. Simultaneously decreased NO-synthase activity in the vascular wall and mucosa. The author believes that the increase of sensitized T-lymphocytes affect the processes of proliferation - differentiation of epithelial cells and the change in NO content - violates the activities of the vessels, which contributes to the severity of the pathological process.

Keywords: delayed type hypersensitivity, repair, mucous, NO-synthase.

Особенности современной жизни: рафинированные продукты, антропогенное загрязнение окружающей среды, фармаконагрузка на человека, обуславливают постоянное и достаточно мощное поступление антигенов в организм. В организм в результате эволюции сложилась многокомпонентная сложная система защиты, предотвращающая гибель организма в этих условиях и обеспечивающая его приспособление к ним — иммунокомпетентная система [1]. Адаптивная деятельность иммунокомпетентной системы обусловлена способностью клеточной подсистемы синтезировать и выделять в кровь биоактивные соединения регулирующие интенсивность различных процессов жизнедеятельности организма [3, 4]. Среди этих соединений особое место занимают цитокины — соединения влияющие на пролиферацию и дифференциацию клеток.

Реакция иммунокомпетентной системы на влияние внешнего воздействия, различается по интенсивности и характеру, выделяют гипо-, гипер- и аллергические реакции. Среди последних по классификации Джелла и Кумбса (1964) различают 4 типа. Особый интерес представляет реакция IV типа, которая зависит от присутствия в организме сенсibilизованных лимфоцитов, возникающих после взаимодействия с ними антигенов. Реакция гиперчувствительности может быть немедленного или замедленного типа. В основе реакций замедленного типа лежит взаимодействие сенсibilизированного (цитотоксического) Т-лимфоцита с антигеном, при этом из последнего выделяется целый набор цитокинов, которые как мы отмечали ранее регулируют процессы жизнедеятельности, в том числе пролиферацию и дифференцировку клеток.

В то же время в патофизиологии одной из актуальных проблем является вопрос о реализации эффектов биоактивных, регуляторных соединений в патогенезе различных патологических состояний. Особенно это касается процессов развивающихся на измененном фоне, например на фоне гиперчувствительности замедленного типа.

В доступной литературе мы встречали разрозненные сведения об особенностях развития репаративных процессов в покровных тканях в условиях фоново измененных процессов регуляции и метаболизма [2, 5].

Исходя из вышесказанного целью нашей работы было выявление особенностей репаративных процессов в слизистой оболочке щеки при измененном фоне (замедленная гиперчувствительность) и участие в этих процессах цикла оксида азота.

Материалы и методы

Материалом настоящего исследования послужили результаты, полученные при исследовании 60 белых крыс самцов линии Вистар, аутбредного разведения весом 180-200грамм. В соответствии с задачами работы животные были ранжированы на 2 группы. I группу составили 20 интактных животных, которые содержались в стандартных условиях вивария и у которых вызывали травму слизистой щеки. Данные полученные при обследовании служили контролем. II группу составили 40 животных, которым на фоне моделирования гиперчувствительности иммунитета (ГЧИ) наносили травму слизистой оболочки щеки.

Гиперчувствительность иммунитета моделировали подкожным введением фибутилфталата (5,0 мг/кг веса крысы) и полного адьюванта Фрейнда (0,2 мл ПФА/0,2 мл физ. раствора на 1 крысу). Верификацию модели ГЧИ осуществляли по наличию и

выраженности отечности слизистых, лимфоцитозу крови и величине макрофагального индекса. Состояние процесса репарации слизистой оценивали на 5 и 11 день после нанесенной травмы. Для этого у животных изымали участки слизистой щеки, которые фиксировали 4% раствором параформальдегида. Материал делили на две части, половину заливали в целлоидин по общепринятым методикам, а из половины после заморозки жидким азотом изготавливали криостатные срезы толщиной 11 мкм на которых по методу Винсента и Кимуры [6] определяли активность NO-синтазы. Из целлоидиновых блоков изготавливали гистологические срезы толщиной 7 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином. Гистологические и гистохимические препараты изучали под световым микроскопом.

Результаты и их обсуждение

При исследовании крови интактных крыс содержание лимфоцитов составляло $63 \pm 1,7\%$, моноцитарный индекс $18 \pm 3,0$.

При макроскопическом исследовании слизистой щеки здоровых крыс установлено, что поверхность ее гладкая, блестящая, влажная, серо-розоватого цвета.

При гистологическом исследовании установлено, что слизистая, отделена от подслизистой ткани плотной однородной тонкой, но различной, мембраной. Слизистая формирует сосочки разных размеров и глубины внедрения в подслизистую ткань. Базальный слой многорядного неороговевающего эпителия представлен клетками с небольшим плотным округлым ядром. Клетки в основном располагаются в один слой, однако в глубине сосочков и местами между ними расположение ядер может быть неупорядоченным. Поверхностный слой эпителия представлен средних размеров, светлоокрашенными ядрами, которые меняют форму от округлых до овальных в направлении к наружной поверхности. Распределены ядра не густо и равномерно, между ними много гомогенного межучточного вещества. Сверху эпителий покрыт широкой (соизмеримой по толщине с эпителием) гомогенной, эозинофильной массой гликопротеидов.

При проведении реакции на определение активности NO-S у здоровых крыс до травмы выявлено, что в сосудах эритроциты обладают красновато-коричневой окраской. В стенке сосуда по внутреннему контуру расселены гранулы серовато-коричневого цвета. В эпителиоцитах базального слоя определяется диффузная бледная серовато-коричневая окраска. В целом, активность в эпителии можно оценивать как умеренную.

Макроскопическое исследование слизистой щеки после нанесения травмы (5 сутки) показало, что она блестящая, розово-красноватая, поверхность гладкая. Через 11 дней после нанесения травмы макроскопически слизистая щеки соответствует данным контроля.

Гистологическое исследование тканей щеки через 5 суток после нанесения травмы показало, что в подслизистой имеет место разрыхленное расположение мышечных пучков и отечное набухание межпучковых соединительнотканых перегородок, имеет место умеренная лимфоидная инфильтрация. Базальная мембрана сплошная рыхловатая, тонкая, сосочки эпителия неравномерно расположены, умеренной глубины проникновения. Базальный слой эпителия представлен клетками с темными небольшими плотными ядрами. Распределены они «частоколом» в глубине сосочков могут располагаться в несколько рядов или формировать небольшие наплывы. Поверхностный слой представлен довольно многочисленными клетками с округлыми светлоокрашенными ядрами. Следует отметить, что по направлению к поверхности ядра приобретают овальную форму, между клетками имеется межклеточное гомогенное вещество. Поверхность слизистой прикрыта пластиной из гликозаминогликанов, она более широкая у края травмы и утончается ближе к середине области травмы.

Через 11 дней после нанесения травмы гистологическая картина слизистой щеки соответствует данным контрольных животных. Гистохимическое исследование активности NO-синтазы на 5 и 11 день после травмы не выявило ее изменений, как и у контрольных животных она была умеренной.

Течение репаративного процесса у животных, у которых травма нанесена на фоне ГЧИ имели место некоторые отличия от вышеописанного процесса. В крови содержание лимфоцитов составляло $48,46 \pm 2,34$ %, что ниже чем у здоровых животных. Моноцитарный индекс $6,43 \pm 0,61$.

В случае нанесения травмы на слизистую щеки на фоне гиперчувствительности иммунитета, ее состояние оценивали дважды: на 5 день после нанесения травмы и на 11 день после травмы.

Через 5 дней после травмирования щеки макроскопически слизистая, на месте повреждения, отличалась от нормы более розовой окраской. При гистологическом исследовании в подслизистой определялось набухание мышечных волокон и фиброзных пучков, лимфоидные инфильтраты и повышенное кровенаполнение сосудов. Определяются поля лимфоцитов – беспорядочные. Эпителий слизистой уширен

(визуально). Сосочки неглубокие, но располагаются чаще, чем в норме. Базальный слой эпителия представлен многорядным слоем мелких, сочно-окрашенных ядер. Поверхностный слой представлен многочисленными средних размеров светлыми ядрами, изменения формы которых по направлению к поверхности не наблюдается. Межуточного вещества в поверхностном слое визуально меньше, чем у здоровых животных. На поверхности слизистой располагается резко утолщенная эозинофильная подушка ГАГ. Вокруг зоны травмы такая подушка обычной толщины.

Через 11 дней после нанесения травмы поверхность слизистой щеки визуально отличается от нормы сохранившейся розовой окраской. При гистологическом исследовании в подслизистой ткани определяется отечное разволокнение мышечных пучков, отечное расширение фиброзных пучков, резкое уменьшение размеров и плотности лимфоидных инфильтратов.

Мембрана, отделяющая эпителий, уширена за счет набухания волокон.

Сосочки эпителия глубокие, четкие, нечастые. Базальный слой эпителия представлен многорядным слоем темных, небольших, сочных ядер, располагающихся частоколом.

Поверхностный слой представлен многочисленным округлыми светлыми ядрами. Межуточного вещества практически нет. Нет также тенденции к переходу к овальным ядрам. Поверхность слизистой покрыта тонким, по сравнению с 5-суточными, слоем гликопротеидов ярко эозинофильной окраски.

В целом, можно отметить угасание воспалительной реакции к 11 суткам опыта и сниженной дифференциацией эпителиальных клеток.

Исследование активности NO-S в динамике репарации травмы показало, что на 5 сутки после травмы, эритроциты в сосудах подслизистой ткани – красновато-коричневой окраски. По внутреннему контуру сосудов редко располагаются мелкие гранулы желтого с сероватым оттенком цвета. В эпителиальном слое базалиоциты демонстрируют такую же окраску контура клетки. Активность NO-S в эпителии оценивалась нами как близкая к умеренной.

Через 11 дней после травмы в сосудах эритроциты обладали светло-коричневой окраской. Эпителиоциты базального слоя – бледной серо-желтой окраской контура клетки, т.е. активность NO-S сохранилась на уровне предыдущего срока наблюдений.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что в условиях гиперчувствительности замедленного типа регенерация слизистой щеки обладает рядом особенностей. Это проявляется в усилении процессов деления и замедлении

процессов клеточной дифференциации. Кроме того имеет место замедление восстановления структурно-функциональной организации слизистой. Одновременно снижается активность NO-синтазы в стенке сосудов подслизистой и слизистой.

Возможно, это обусловлено тем, что сенсibilизированные Т-лимфоциты, возникающие при ГЗТ выделяют большое количество цитокинов, которые участвуют в регуляции интенсивности процессов клеточной пролиферации. С другой стороны те же Т-лимфоциты могут влиять на снижение активности NO-синтазы, что изменяет тонус сосудов и соответственно субстрат — кислородное обеспечение деятельности эпителия [5], в том числе и процессы дифференциации. Совокупность этих процессов и определяет обнаруженные изменения.

Литература

1. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. — Одесса. — Астро Принт. — 199. —604 с.
2. Дисфункция сосудистого эндотелия при артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца (обзор литературы) / А.Б. Корякина, Ю.И. Пивоваров, Т.Е. Курильская, А.С. Сергеева, И.В. Бабушкина//. — Бюллетень ВУСНЦ СО РАМН. — 2013. — № 2 (90). ч. I — С. 165-170.
3. Патофизиология. Курс лекций: Учебное пособие. /под редакцией П.Ф.Литвицкого / - М. Медицина — 2003. —752 с.
4. Сапин М.Р. Иммунная система, стресс и иммунодефицит / М.Р. Сапин, Б.Б. Никитюк // — М.: Джингар. — 2000. — 184 с.
5. Тюренок И.Н. Развитие эндотелиальной дисфункции при недостаточности половых гормонов / И.Н. Тюренок, А.В. Воронков, А.И. Ребертус // — 2009. №?? — С. 33-36.
6. Коржевский Д.Э. Определение активности НАДФ – диофаразы в головном мозге крыс после фиксации разной длительности / Д.Э. Коржевский // Морфология. — 1996. — т 109, № 3. — С. 76-77.

References

1. Drannik G. N. Clinical Immunology and Allergology. - Odessa. - Astroprint. — 199. —604 p (Rus.).
2. Dysfunction of the vascular endothelium in patients with arterial hypertension and coronary heart disease (review) / A. B. Koryakina, Y. I. Brewers, T. E. Kuril, A. S. Sergeeva,

I.V. Grandma // - Bulletin VUSNTS SB RAMS. — 2013. — № 2 (90). p I — P. 165-170.(Rus.)

3. Pathophysiology. Lecture Course: Textbook. / Edited P.F.Litvitskogo / - M. Medicine — 2003. —752 p. (Rus.)

4. Sapin M. R. The immune system, stress, immune deficiency / M. R. Sapin, B. B. Nikitiuk // - M.: Dzhingar. — 2000. — 184 p. (Rus.)

5. Tyurenkov I. N. The development of endothelial dysfunction at insufficiency of sex hormones / I. N. Tyurenkov, A. V. Voronkov, A. I. Rebertus // — 2009. №? — P. 33-36. (Rus.)

6. Korzhevsky DE Determination of the activity of NADPH - diofarazy in rat brain after fixation of different duration / DE Korzhevsky // Morphology. — 1996. — т 109, № 3. — P. 76-77. (Rus.)