

М. С. Гнатюк, Н. Є. Сорока

## Вплив ентеросорбції на місцеві імунні процеси при токсичному ураженні товстої кишки

*В патогенезе токсического колита, индуцированного ацетатом свинца, важная роль принадлежит изменениям местного иммунного гомеостаза толстой кишки. Хронический токсический колит сопровождается существенным перераспределением количества плазмоцитов-продуцентов основных классов иммуноглобулинов в стенке толстой кишки в сторону преимущественного увеличения продуцентов IgA, нарушением соотношений между ними, напряжением и дестабилизацией местных иммунных реакций. Воздействие энтеросорбента СКНП-2 на патологический процесс в толстой кишке при хронической свинцовой интоксикации способствует улучшению местных иммунных реакций в исследуемом органе, снижению меры повреждения его функционально-структурных элементов, а также повышению их адаптационных возможностей.*

### Вступ

Місцевий імунітет – це складний комплекс захисних пристосувань організму різноманітної природи, що осформувався еволюційно та забезпечує захист покривів, які безпосередньо контактують із довкіллям. Він є невід’ємною частиною загального імунітету – однієї з систем гомеостазу організму, котра забезпечує його захист від чужорідних біологічних агентів, власних клітин зі зміненою генетичною інформацією та аутоантігенів. У той же час завдяки особливостям умов, при яких взаємодіють між собою захисні пристосування та біологічні агенти на поверхні слизових оболонок, а також унікальності структури і властивостей цих пристосувань, місцевий імунітет складає досить добре окреслену і, певною мірою, автономну у своїх функціях систему [14–16]. Відомо, що пошкодження слизової оболонки кишечника, яке виникає при хронічному запальному процесі, компенсується двома бар’єрними системами: епітеліальним пластом і місцевим імунітетом, особливості змін якого за фізіологічних і патологічних умов нині до кінця не вивчені [5, 9]. Тому паралельне вивчення цих систем повинно бути важливим внеском у розуміння патоморфогенезу хронічного коліту. Останнім часом у лікуванні патології кишечника різного походження з великим успіхом використовуються ентеросорбенти [3, 4]. Однак залишається не дослідженим вплив ентеросорбції на місцеві імунні реакції кишечника при його ураженні.

Метою нашого дослідження було вивчення особливостей місцевого імунітету кишечника при експериментальному токсичному коліті, а також можливість корекції виявлених змін за допомогою ентеросорбенту СКНП-2.

### Методика

Дослідження проведено на 115 білих щурах-самцях масою 230–250 г, які були поділені на три групи. До I (контрольної) групи ввійшли 33 інтактних практично

© М. С. Гнатюк, Н. Є. Сорока, 1999

здорових щура, що знаходилися за звичайних умов віварію, до II – 47 тварин з експериментальним токсичним колітом, до III – 35 щурів з токсичним ураженням товстої кишки, корегованим ентеросорбцією.

Токсичний коліт моделювали щодобовим внутрішньошлунковим введенням тваринам ацетату свинцю в дозі 0,05 г/кг протягом трьох місяців [11]. Ентеросорбент СКНП-2 вводили щурам в добовій дозі 0,3 г/кг щодобово, починаючи з 15-ї доби експерименту, впродовж двох тижнів. Для оцінки стану місцевого імунітету кишечника вивчали активність функціонування плазматичних клітин-продуцентів імуноглобулінів класів А, М та G за допомогою методу імунофлюоресценції [7, 17]. При виявленні імуноцитів-продуцентів IgA, IgM, IgG зрізи товстої кишки обробляли моноспецифічними антисироватками проти IgA, IgM і IgG щура (фірми «Sigma», США) кон'югованими ізотіоціанатом флюоресцеїну, застосовуючи прямий метод Кунса. Зрізи досліджували за допомогою люмінесцентного мікроскопу «Люмам Р-8», підраховуючи при цьому плазматичні клітини, що давали специфічне світіння, на 1 мм<sup>2</sup> слизової оболонки товстої кишки.

Евтаназію тварин здійснювали швидкою декапітацією. Вирізані шматочки з товстої кишки фіксували в 10 %-му нейтральному формаліні, рідинах Карнуа, Ценкера, в 96° етиловому спирті і після відповідного проведення заливали в парафін або целюдин. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [13], проводили ШИК-реакцію, імпрегнацію сріблом згідно з Гоморі [12]. Гістостереометричні вимірювання здійснювалися на мікропрепаратах товстої кишки з використанням методик і рекомендацій Автанділова [1, 2]. Морфометрично визначали клітинну щільність інфільтрату на 1 мм<sup>2</sup> у поверхневих і глибоких шарах слизової оболонки, а також його клітинний склад. Для оцінки кількісних змін плазматичних клітин, що продукують IgA, IgM, IgG, застосовувався інформаційний аналіз [10] з обчисленням ентропії (H), відносної ентропії (h) та надмірності (R). Використовували також метод кореляційного аналізу з обчисленням коефіцієнта парної кореляції (r). Математична обробка кількісних величин проведена на ПЕОМ типу IBM PC/AT.

### Результати та їх обговорення

Методом імунофлюоресценції виявлено статистично достовірний перерозподіл кількості плазматичних клітин, що продукують IgA, IgM та IgG, у слизовій оболонці товстої кишки при експериментальному токсичному коліті у білих щурів (табл. 1). Число плазмоцитів-продуцентів IgA підвищилось у 2,5 раза відносно аналогічного показника в інтактних тварин. Кількість клітин, які

Таблиця 1. Кількість клітин, що продукують основні класи імуноглобулінів, на 1 мм<sup>2</sup> слизової оболонки товстої кишки у досліджуваних групах щурів ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )

Продуценти	Інтактні тварини (контроль)	Тварини з токсичним колітом	Тварини з токсичним колітом, коригованим ентеросорбентом
IgA	297,30 ± 4,80	743,26 ± 17,10***	564,87 ± 8,61**
IgM	148,60 ± 2,70	237,76 ± 5,40***	222,90 ± 3,06*
IgG	74,20 ± 0,87	39,07 ± 1,02***	48,28 ± 0,72*

Примітка. Тут і в табл. 2 і 3 \* P < 0,05; \*\* P < 0,01; \*\*\*P < 0,001.

синтезують IgM та слизової оболонки ни, які надходять макромолекули, в та аутоагресивні р

Інформаційні центів IgA та Ig імуноглобулінів су ням надмірності (т до 2,120 біт ± 0,04 0,891 ± 0,021 (P < ± 0,24 % (P < 0,00 про напруження, д елементів місцево тивним параметро ту частину дослідж нях може вдоскона тей [6, 10]. Істотне зниження адаптаці стої кишки.

Гістологічно с ся чисельними деф виразкових уражен було вкрите гемора рин зустрічалися скопічному дослід вогнищеву десквам дин, явища перива рату, дифузну інф ними та плазматич лімфатичного апар ня числа келихопо

Слід також за жень товстої кишк IgM (r = +0,83 ± 0 турні пошкодженн невеликому збільш

Таблиця 2. Рез IgM та IgG у слизо

Показник
Ентропія (H), біт
Відносна ентропія (h)
Надмірність (R), %

синтезують IgM та IgG було  $237,76 \pm 5,40$  та  $39,07 \pm 1,02$  відповідно на  $1 \text{ мм}^2$  слизової оболонки кишки. Виявлені зміни свідчать про те, що токсичні речовини, які надходять у кишечник, руйнують гістогематичні бар'єри та біологічні макромолекули, внаслідок чого можуть з'являтися аутоантигенні детермінанти та аутоагресивні реакції [8].

Інформаційним аналізом встановлено, що збільшення числа клітин-продуцентів IgA та IgM і зміна співвідношення між продуцентами основних класів імуноглобулінів супроводжувалися істотним підвищенням ентропії та зниженням надмірності (табл. 2). При цьому ентропія підвищувалася від  $1,610 \pm 0,015$  до  $2,120 \text{ біт} \pm 0,045 \text{ біт}$  ( $P < 0,001$ ), відносна ентропія – від  $0,748 \pm 0,005$  до  $0,891 \pm 0,021$  ( $P < 0,001$ ), а надмірність знижувалася від  $25,20 \pm 0,18$  до  $10,90 \% \pm 0,24 \%$  ( $P < 0,001$ ). Описана динаміка носіїв біологічної інформації свідчила про напруження, дезорганізацію та нестабільність функціонально-структурних елементів місцевого імунного захисту товстої кишки [1–3]. Особливо демонстративним параметром інформаційного аналізу була надмірність, яка показувала ту частину досліджуваної системи, за рахунок якої остання при різних ураженнях може вдосконалюватися, що, по суті, є виразом її адаптаційних можливостей [6, 10]. Істотне падіння надмірності при токсичному коліті вказує на значне зниження адаптаційних можливостей місцевого імунного захисту ураженої товстої кишки.

Гістологічно експериментальний токсичний коліт у щурів характеризувався чисельними дефектами слизової оболонки найчастіше у вигляді ерозивних і виразкових уражень. Виразки в основному мали нечіткі брудно-сірі краї, дно їх було вкрите геморагічними та фібринозними виділеннями. Зрідка в деяких тварин зустрічалися невеликі поліпозні утвори слизової оболонки. При мікроскопічному дослідженні товстої кишки у експериментальних тварин знайдено вогнищеву десквамацію покривного епітелію, розширення та повнокров'я судин, явища периваскулярного і підслизового набряків, атрофію залозистого апарату, дифузну інфільтрацію слизової оболонки та підслизового шару лімфоїдними та плазматичними клітинами. Зустрічалася також гіперплазія власного лімфатичного апарату, місцями нечасто спостерігалися периваскуліти та збільшення числа келихоподібних клітин у криптах слизової оболонки.

Слід також зазначити, що ступінь і глибина патоморфологічних пошкоджень товстої кишки при токсичному коліті корелювали з місцевою продукцією IgM ( $r = +0,83 \pm 0,06$ ). При великій кількості клітин-продуцентів IgM структурні пошкодження досліджуваного органа були виражені інтенсивно, а при невеликому збільшенні числа цих клітин – виявилися незначними.

**Таблиця 2. Результати інформаційного аналізу розподілу продуцентів IgA, IgM та IgG у слизовій оболонці товстої кишки досліджуваних груп щурів ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )**

Показник	Інтактні тварини (контроль)	Тварини з токсичним колітом	Тварини з токсичним колітом, коригованим ентеросорбентом
Ентропія (H), біт	$1,610 \pm 0,015$	$2,120 \pm 0,045^{***}$	$2,018 \pm 0,027^{**}$
Відносна ентропія (h)	$0,748 \pm 0,005$	$0,891 \pm 0,021^{**}$	$0,862 \pm 0,009^*$
Надмірність (R), %	$25,20 \pm 0,18$	$10,90 \pm 0,24^{***}$	$13,80 \pm 0,15^{**}$

Клітинна щільність інфільтрату слизової оболонки товстої кишки в поверхневих відділах майже вдвічі перевищувала аналогічну в глибоких відділах власного шару слизової оболонки (табл. 3). Серед вільнорозташованих сполучнотканинних елементів строми слизової оболонки переважали плазматичні клітини, лімфоцити та зрілі фібробласти.

При експериментальному токсичному коліті в поверхневих і глибоких відділах власного шару слизової оболонки порівняно з нормою збільшувалася клітинна щільність інфільтрату. При цьому статистично достовірно підвищувалося число незрілих плазматичних клітин, еозинофілів, моноцитів і бластних форм лімфоцитів, а також істотно зменшувалася кількість молодих і зрілих фібробластів. Слід також зазначити, що поява бластних форм лімфоцитів переважала в глибоких шарах слизової оболонки.

На основі проведеного дослідження можна зробити висновок, що експериментальний токсичний коліт у білих щурів характеризувався тяжким ураженням товстої кишки, що проявлялося запальними, альтеративними, атрофічними, гіпертрофічними та гіперпластичними процесами. Структурні зміни слизової оболонки товстої кишки та вираженість місцевих імунних реакцій в основному визначають тяжкість захворювання. В підтриманні місцевого імунного гомеостазу основна роль належить IgA та IgM, які синтезуються у слизовій оболонці досліджуваного органа.

Застосування ентеросорбенту СКНП-2 при корекції експериментального токсичного коліту позитивно впливало на організм дослідних тварин. У них

**Таблиця 3. Клітинна щільність інфільтрату та його клітинний склад у слизовій оболонці товстої кишки у досліджуваних групах щурів ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )**

Показник	Інтактні тварини (контроль)	Тварини з токсичним колітом	Тварини з токсичним колітом, коригованим ентеросорбентом
Клітинна щільність інфільтрату на 1 мм <sup>2</sup>			
у поверхневих шарах слизової оболонки	17396,25 ± 869,81	26534,72 ± 1326,74*	24702,67 ± 310,31*
у глибоких шарах слизової оболонки	8585,01 ± 429,22	18937,45 ± 946,87*	15453,18 ± 221,40*
Малі лімфоцити, %	33,59 ± 0,27	24,09 ± 0,57*	25,86 ± 0,30*
Великі лімфоїдні клітини, %	0,470 ± 0,004	9,320 ± 0,210**	7,247 ± 0,105**
Плазматичні клітини, %			
незрілі	2,27 ± 0,02	12,14 ± 0,27***	2,59 ± 0,12
зрілі	10,41 ± 0,12	7,09 ± 0,24**	8,65 ± 0,15*
Моноцити, %	0,560 ± 0,005	2,150 ± 0,051***	1,750 ± 0,027**
Фібробласти, %			
молоді	17,83 ± 0,15	14,67 ± 0,33*	15,26 ± 0,18
зрілі	26,92 ± 0,21	20,58 ± 0,45*	21,26 ± 0,27*
Еозинофіли, %	0,906 ± 0,006	3,150 ± 0,60*	2,560 ± 0,040*
Нейтрофіли, %	0	0,60 ± 0,02*	0,50 ± 0,01*
Гістіоцити, %	5,80 ± 0,05	5,03 ± 0,12*	5,12 ± 0,08
Тканинні макрофаги, %	1,25 ± 0,002	1,18 ± 0,03	1,19 ± 0,02

з'являвся апетит, збільшувалася активність.

Імунофлюоресцентне дослідження тварин з експериментальним колітом показало, що кількість плазматичних клітин у слизовій оболонці товстої кишки збільшувалася. Слід відмітити, що в різних відділах товстої кишки відношення між кількостями клітин різні, що свідчить про різні ступені тяжкості токсичним колітом.

Аналіз носової слизової оболонки показав, що числа клітин-предшественників були достовірно збільшені. Виявлена реакція на ураження, дезорганізація місцевого імунного гомеостазу токсичним колітом. Зерву адаптаційні процеси. Гістологічне дослідження показало, що в колітом, як і в нормі, істотно зменшувалася кількість клітин, що з'являлися регенеративними.

При експериментальному колітом СКНП-2, у товстої кишки збільшувалася клітинна щільність інфільтрату статистично достовірно. Плазматичних клітин збільшувалася кількість, що свідчить про активізацію клітинної імунізації. Відмічено збільшення моноцитів, молодих форм лімфоцитів. Таким чином, застосування ентеросорбенту СКНП-2 при токсичному колітом товстої кишки. Це свідчить про позитивний вплив досліджуваного препарату на імунні процеси товстої кишки.

M. S. Gna

ENTERO-  
PROCES

The local i  
pathogenes  
accompanie  
immunoglo

и товстої кишки в повер-  
ну в глибоких відділах  
норозташованих сполуч-  
ажали плазматичні кліти-

поверхневих і глибоких  
з нормою збільшувалася  
до достовірно підвищува-  
ів, моноцитів і бластних  
ькість молодих і зрілих  
х форм лімфоцитів пере-

ти висновок, що експери-  
зувався тяжким уражен-  
теративними, атрофічни-  
Структурні зміни слизової  
них реакцій в основному  
сцегового імунного гомеос-  
ється у слизовій оболонці

екції експериментального  
дослідних тварин. У них

#### ого клітинний склад у групах щурів ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )

	Тварини з токсичним колітом, коригованим ентеросорбентом
74*	24702,67 ± 310,31*
87*	15453,18 ± 221,40* 25,86 ± 0,30*
*	7,247 ± 0,105**
*	2,59 ± 0,12
*	8,65 ± 0,15*
**	1,750 ± 0,027**
*	15,26 ± 0,18
*	21,26 ± 0,27*
*	2,560 ± 0,040*
*	0,50 ± 0,01*
*	5,12 ± 0,08
*	1,19 ± 0,02

з'являвся апетит, зникала діарея, покращувався зовнішній вигляд, підвищува-  
лася активність.

Імунофлюоресцентним методом виявлено, що під впливом ентросорбції у  
тварин з експериментальним колітом відбувається позитивний перерозподіл  
кількості плазматичних клітин, що продукують IgA, IgM та IgG у слизовій  
оболонці товстої кишки (див. табл. 1). При цьому істотно зменшувалося число  
плазмоцитів-продуцентів IgA і IgM, підвищувалася кількість продуцентів IgG.  
Слід відмітити, що під впливом ентросорбції також дещо згладжувалося спів-  
відношення між кількісними характеристиками плазматичних клітин, які син-  
тезують різні класи імуноглобулінів, порівняно з некоригованим експеримен-  
тальним токсичним колітом.

Аналіз носіїв біологічної інформації виявив, що описана вище динаміка  
числа клітин-продуцентів основних класів імуноглобулінів супроводжувалася  
достовірним зниженням ентропії, відносної ентропії та підвищенням надмірності.  
Виявлена реакція інформаційних показників свідчила про зменшення напру-  
ження, дезорганізації та нестабільності функціонально-структурних елементів  
місцевого імунного захисту товстої кишки. Підвищення надмірності у тварин з  
токсичним колітом при корекції ентросорбентом указувало на збільшення ре-  
зерву адаптаційних можливостей ураженої товстої кишки (див. табл. 2).

Гістологічне дослідження мікропрепаратів товстої кишки тварин з токсич-  
ним колітом, які отримували ентросорбент, показало, що під впливом сорбції  
істотно зменшувалися запальні, альтеративні та гемодинамічні розлади. Зни-  
жувався при цьому ступінь набряку та клітинної інфільтрації, суттєво покращу-  
валися регенераторні процеси.

При експериментальному токсичному коліті, коригованому ентросорбентом  
СКНП-2, у поверхневих і глибоких відділах власного шару слизової облон-  
ки товстої кишки порівняно зі значеннями у хворих тварин істотно зменшувала-  
ся клітинна щільність інфільтрату (див. табл. 3). Під впливом ентросорбції  
статистично достовірно знижувалося число малих лімфоцитів і незрілих плаз-  
матичних клітин. Кількість зрілих плазматичних клітин мала тенденцію до нор-  
малізації. Відмічався також позитивний вплив сорбції на динаміку кількості  
моноцитів, молодих і зрілих фібробластів, еозинофілів, нейтрофілів.

Таким чином, проведене нами дослідження виявило виражену позитивну  
дію ентросорбенту СКНП-2 на перебіг хронічного токсичного ураження тов-  
стої кишки. Це проявлялося нормалізацією процесу місцевої антигілопродукції  
в досліджуваному органі, стабілізацією стану структурно-функціональних еле-  
ментів товстої кишки, посиленням в ній адаптаційних і регенераторних про-  
цесів.

M. S. Gnatyuk, N. E. Soroka

#### ENTEROSORPTION INFLUENCE ON THE LOCAL IMMUNE PROCESSES UNDER THE TOXICAL IMPAIRMENT OF COLON

The local immune homeostasis changed of the colon play a significant role in the  
pathogenesis of toxic colitis, induced by lead acetate. Chronic toxic colitis is  
accompanied by a considerable redistribution of plasmocytes-producers of the main  
immunoglobulins classes in the colon valls towards a primary IgA producers increase,

a correlation between them and the local immune reactions tension and destabilization as well. Enterosorbent SCNP-2 influence on a pathological process in the colon under the chronic lead intoxication results in the local immune reactions improvement in the studied organ, its functional and structural elements impairment rate reduction as well as their adaptive properties increase.

Medical Institute, Ministry of Public Health of Ukraine, Ternopil

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию. – М.: Медицина, 1980. – 215 с.
2. Автандилов Г.Г., Яблучанский Н.И., Губенко В.Г. Системная стереометрия в изучении патологических процессов. – М.: Медицина, 1981. – 192 с.
3. Беляков Н.А. Энтеросорбция. – Л.: Центросорбтех, 1991. – 329 с.
4. Береза Н.М. Энтеросорбция у лікуванні хворих виразковим колітом // Лік. справа. – 1992. – № 1. – С. 97-100.
5. Желтвей В.В, Ганич Т.М., Базиля Н.И. Иммунологический скрининг в гастроэнтерологии. – В кн.: Методы исследования и лечения, аппар. системы и ЭВМ в гастроэнтерологии. Механизмы действия минеральных вод и грязей на функциональное состояние органов пищеварения: Всес. конф., Ессентуки-Железноводск, 9-10 окт., 1991. – С. 176-178.
6. Зайцева Л.Г., Васильева Е.И., Горская Е.М. Функциональная активность макрофагов при экспериментальных дисбактериозах кишечника крыс // Журн. микробиологии эпидемиологии и иммунологии. – 1991. – № 8. – С. 68-71.
7. Иммуофлюоресценция в медицине / Под ред. Е.Н.Левинной. – М.: Медицина, 1977. – 240 с.
8. Кар Я. Механизмы биологической защиты. – М.: Медицина, 1976. – 108 с.
9. Кононов А.В. Дефект местного иммунитета слизистой оболочки при хроническом воспалении // Вопр. клин. иммунологии. – Омск: Изд-во ин-та клин. и эксп. медицины СО АМН СССР, 1989. – С. 30-32.
10. Лобко П.И., Скородуля Н.Н. Сравнительная характеристика информационных показателей внутривисцерального строения больших чревных нервов. – В кн.: Теория информации в медицине. – Минск: Белорусь, 1974. – С. 187-189.
11. Мамбеева А.А. Поражение желудочно-кишечного тракта при свинцовой интоксикации. – Алма-Ата: Казахстан. – 1975. – 192 с.
12. Непомнящих Л.М. Патологическая анатомия и ультраструктура сердца. – Новосибирск: Наука, 1981. – 324 с.
13. Сапин М.Р. Иммунные структуры пищеварительной системы. – М.: Медицина, 1987. – 219 с.
14. Шварцман Я.С., Хазенсон Я.В. Местный иммунитет. – М.: Медицина, 1978. – 223 с.
15. Allison M.C., Poulter L.M. Changes in phenotypically distinct mucosal macrophage populations may be a prerequisite for the development of inflammatory bowel disease // Chin. and Exd. Immunol. – 1991. – 85, № 3. – P. 504-509.
16. Axellsson L.C., Ahistedt S. Characteristics of immune complex – induced chronic experimental colitis in rats with a therapeutic effect of sulphasalarine // Scand. J. Gastroenterol. – 1990. – 25, № 3. – P. 203-209.
17. Coons A.N., Crech H.J., Jones A.N., Berliner E. The demonstration of Pneumococcal Antidens in tissue by use of fluorescent antibody // J. Immunol. – 1942. – 45, № 3. – P. 159-170.

Терноп. мед. ін-т  
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов  
до редакції 29.02.96

І. Є. Колпаков

Зміни функцій  
які зазнали  
іонізуючого  
внаслідок Ч

Исследов  
кое радиа  
блюдали  
функций  
ческие н  
Высказа  
шение ин  
чие сост

## Вступ

Внаслідок Чорноб  
генти дітей продов  
малих доз іонізую  
аварійного період  
до організму вваж  
контактного  $\beta$ -опр  
впливом продуктів  
ного стану систем  
та віддалених меди  
ментальні, лабора  
комплекс інших н  
значний вплив на  
радіаційного впли  
вучих» радіонукл  
тистичні показник  
ня у дітей, які зазн  
клініки та перебі  
морфофункціонал  
страждають на хр

Окремі відом  
піраторних функці  
чого випромінюва  
Незважаючи на  
випромінювання ч  
гастрофи на стан  
змін не вивчалис

© І. Є. Колпаков,