

DOI: 10.26693/jmbs05.03.122
УДК 616.341:615.24:599.323.4

Гринь В. Г., Костиленко Ю. П.,
Шепитько К. В., Лавренко Д. А.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШЕК ТОНКОЙ КИШКИ БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ПРИЕМА КЛАРИТРОМИЦИНА

Украинская медицинская стоматологическая академия, Полтава, Украина

vogrin034@gmail.com

Антибактериальная терапия, и прежде всего использование антибиотиков широкого спектра действия, частично или полностью подавляет не только патогенную, но и нормальную микрофлору, что является причиной различных функциональных расстройств кишечного тракта. Крайне недостаточно и противоречиво изучены вопросы, касающиеся морфофункционального состояния структурированных лимфоэпителиальных образований кишечного тракта, из которых наиболее представительными являются групповые лимфоидные узелки (пейеровы бляшки).

Целью исследования являлось изучение пейеровых бляшек тонкой кишки белых крыс после приема кларитромицина с помощью методов иммуногистохимического анализа. В эксперименте задействовано 30 белых крыс-самцов репродуктивного возраста, массой $200,0 \pm 20,0$ граммов. Антибиотик широкого спектра действия (кларитромицин, таблетки 500 мг, доза препарата составляла 10 мг/кг) вводился животным перорально с пищей в режиме двухразового их кормления в сутки (утром и вечером), в течение 10 дней. После вивисекции проводилось избирательное иссечение участков брыжеечной части тонкой кишки с пейеровыми бляшками. Иммуногистохимические исследования выполнены в лаборатории «Прайм Тест» при кафедре патологической анатомии ХМАПО (г. Харьков). Комплекс морфологических исследований проводился на микроскопе Primo Star (Carl Zeiss) с использованием программы AxioCam (ERc 5s).

Продemonстрировано, что после курсового приема кларитромицина, изменения заключались в снижении В- и Т-лимфоцитов в соответственно зависимых зонах, и увеличении их численности в промежуточных зонах между лимфоидными узелками. Действие кларитромицина на микрофлору кишечника сопряжено с увеличением в пейеровых бляшках количества плазмочитов, макрофагов и классических дендритных клеток, а также появле-

нии плазмочитоидных дендритных клеток. Действие антибиотика приводит к фагоцитарной активации энтероцитов в лимфоидно-ассоциированном эпителии пейеровых бляшек.

Ключевые слова: белые крысы, пейеровы бляшки, кларитромицин, иммуногистохимический анализ.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Работа является фрагментом НИР кафедры анатомии человека: «Возрастные аспекты структурной организации органов иммунной системы, желез желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы человека в норме и патологии», № государственной регистрации 0116U004192.

Введение. В настоящее время хорошо известно, что антибактериальная терапия, и прежде всего использование для этого антибиотиков широкого спектра действия, частично или полностью подавляет не только патогенную, но и нормальную микрофлору, что является причиной различных функциональных расстройств кишечного тракта [1-6]. В литературе имеется много публикаций, в которых уделяется в основном внимание клиническим и микробиологическим аспектам дисбактериозов, ассоциированных с антибиотикотерапией и способов их лечения [7, 8].

В то же время крайне недостаточно и противоречиво освещены вопросы, касающиеся морфофункционального состояния структурированных лимфоэпителиальных образований кишечного тракта, из которых наиболее представительными являются групповые лимфоидные узелки, то есть пейеровы бляшки. По очевидным причинам прямое изучение их в клинике является весьма затруднительным. Поэтому приходится прибегать к экспериментальному моделированию аналогичного состояния на лабораторных животных.

В предыдущих исследованиях нами установлено, что наиболее подходящими для этого являются

белые крысы, у которых тонкая кишка по своему строению является достаточно сходной с таковой человека [9-15]. Решению данной проблемы способствует то, что в ней сосредоточено основное количество пейеровых бляшек, которые четко визуализируются на ее внешней поверхности со стороны (как и у человека) противоположной месту прикрепления брыжейки. Ранее при экспериментальных исследованиях нами было установлено, что кларитромицин, как антибиотик широкого спектра действия, обладает сильно выраженными иммуностимулирующими свойствами, что выражается при его приеме белыми крысами в увеличении общей площади пейеровых бляшек их тонкой кишки более чем в два раза [16]. Эти результаты в корне противоречат, имеющимся в литературе данным, согласно которым антибиотики подобного класса оказывают совсем противоположное действие [7, 17-19].

Цель исследования. Учитывая это принципиальное расхождение, поставили цель изучить пейеровы бляшки тонкой кишки белых крыс после приема кларитромицина с помощью методов иммуногистохимического анализа.

Материал и методы исследования. В эксперименте задействовано 30 белых крыс-самцов репродуктивного возраста, массой $200,0 \pm 20,0$ граммов. До этого все животные находились в стандартных условиях экспериментально-биологической клиники (виварий) Украинской медицинской стоматологической академии, согласно правилам содержания экспериментальных животных, установленных Директивой Европейского Парламента и Совета (2010/63/EU), приказом Министерства образования и науки, молодежи и спорта Украины от 01.03.2012 г. № 249 «Об утверждении порядка проведения научными учреждениями опытов, экспериментов на животных» и «Общих этических принципов экспериментов на животных», принятых Пятым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2013), (Протокол № 155 от 26.04.2017 г. заседание Комиссии по биомедицинской этике при Украинской медицинской стоматологической академии) [20, 21].

Прежде всего, в процессе исследования всталла задача о выборе способа перорального введения животным антибиотика широкого спектра действия, в качестве которого использовали кларитромицин (таблетки 500 мг) [22, 23]. Одним из самых целевых способов, применяемых в практике подобных экспериментов, является использование гибкой канюли, вводимой через рот в пищевод. Однако, принимая во внимание, что данная процедура неминуемо вызывает у животных стрессовое состояние, которое неблагоприятно может сказываться

на функциональном состоянии пищеварительной системы, принято решение от нее отказаться. Взамен решено прибегнуть к естественному, физиологическому способу, который заключался в приеме антибиотика животными с пищей в режиме двухразового их кормления в сутки (утром и вечером), в течение 10 дней, что соответствует условиям их содержания в виварии. Однако обычно используемые в рационе животных грубые кормовые продукты заменили более калорийной пищей, в качестве которой использован черствый хлеб, позволяющий впитывать в себя раствор кларитромицина. Доза последнего рассчитана, исходя из данных ветеринарного справочника, согласно которому дозировка кларитромицина для крыс составляет 10 мг/кг [24].

После завершения эксперимента и поочередной вивисекции животных, проводилось вскрытие полости живота крыс, промывка всего его содержимого физиологическим раствором и приступали к избирательному иссечению коротких участков брыжеечной части тонкой кишки, в которых находились пейеровы бляшки.

Иммуногистохимические исследования выполнены в лаборатории «Прайм Тест» при кафедре патологической анатомии ХМАПО (г. Харьков). Для изучения иммуногистохимических (ИГХ) особенностей пейеровых бляшек материал фиксировали 10% нейтральным формалином в течение 24 ч, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на высокоадгезивные стекла Super Frost и высушивали при температуре 37°C в течение 18 часов. Демаскирующая термическая обработка была выполнена по методу кипячения срезов в цитратном буфере (pH 6,0). Для визуализации первичных антител применялась система детекции UltraVision Quanto Detection Systems HRP Polymer (Thermo scientific). В качестве хромогена использовался DAB (диаминобензидин).

Оценку клеточного состава и иммунных клеточных реакций в пейеровых бляшках, их лимфоидных узелках и лимфоидно-ассоциированном эпителии выявляли по экспрессии Т- и В-клеточных кластеров дифференцировки (CD3, CD79), маркера плазматических клеток (CD38), маркера макрофагов (CD68 (KP1)), маркера дендритных клеток (CD23), маркера эпителиальных клеток ПАН-цитокератина (Cytokeratin PAN AE1/AE3). Использовались первичные моноклональные антитела (MKAT) фирмы Thermo scientific (Германия), Rady-to-Use.

Результаты подсчитывали с помощью окулярной сетки Автандилова [25] в 10 произвольно выбранных полях зрения при увеличении х400. Оценку ИГХ метки проводили по степени распространения.

Степень распространения метки учитывали по процентному содержанию положительно окрашенных в коричневый цвет мембран (и цитоплазмы – для CD68) клеток от общего количества клеток в поле зрения.

Комплекс морфологических исследований проводился на микроскопе Primo Star (Carl Zeiss) с использованием программы AxioCam (ERc5s).

Результаты исследования и их обсуждение.

Результаты иммуногистохимического анализа пейеровых бляшек тонкой кишки экспериментальных животных (после курсового приема ими антибиотика широкого спектра действия – кларитромицина) в целом заметно отличаются от таковых контрольной группы животных, о чем свидетельствуют частные, зарегистрированные нами, факты, указывающие на реактивные изменения клеточного состава их, в основном больших лимфоидных узелков (табл. 1).

Таблица 1 – Долевое соотношение основных иммунокомпетентных клеток в пейеровых бляшках тонкой кишки белых крыс в норме и после курсового приема кларитромицина

Клеточные элементы	Зона	Группа контроля (в норме) (n=30)	Основная группа (после курсового приема кларитромицина) (n=30)
В-лимфоциты	В-зона	40,0-45,0%	34,9-40,6%
	Т-зона	<1%	2,0-2,1%
	Купол	до 2,0%	до 1,6%
Т-лимфоциты	В-зона	<1%	<1%
	Т-зона	27,6-30,7%	23,9-25,1%
	Купол	3,7-4,1%	4,2-4,4%
Плазмоциты	В-зона	<1%	2,0-2,8%
	Т-зона	1,0-1,6%	1,4-2,0%
	Купол	2,8-3,2%	3,9-4,4%
Макрофаги	В-зона	1,4-2,2%	2,6-2,8%
	Т-зона	1,1-1,8%	1,9-2,1%
	Купол	1,3-1,9%	2,3-2,5%
Дендритные клетки	В-зона	5-6,7%	6,1-8,3%
Фагоцитирующие энтероциты	Эпителий	-	до 7,0%

Так, в В-зависимой зоне в подавляющем числе наблюдений выявляется увеличение в размерах герминативных центров, в которых находятся CD79+ В-лимфоциты, центробласты и центроциты, общей численностью от 34,9 до 40,6% (рис. 1).

При этом сеть отростков дендритных клеток, занимающая примерно 8,3%, визуализируется при реакции сD23 (рис. 2).

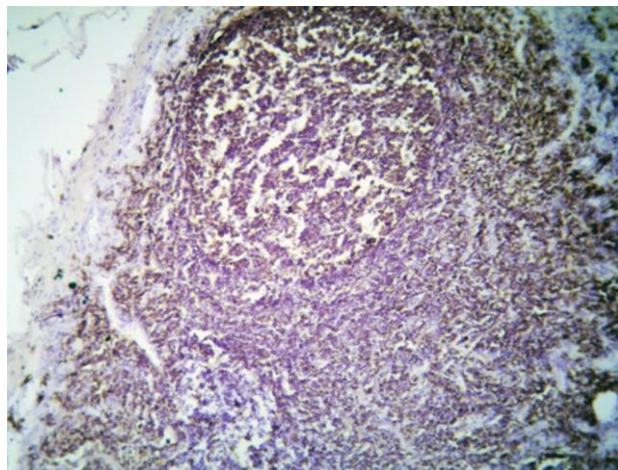


Рис. 1. Герминативный центр лимфоидного узелка пейеровой бляшки тонкой кишки белой крысы после приема кларитромицина. Позитивно окрашенные В-лимфоциты. Реакция с МКАТ к CD79, x100

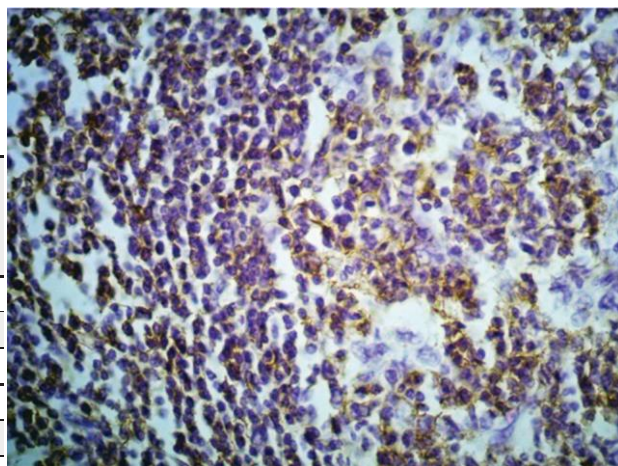


Рис. 2. Разветвленная сеть отростков дендритных клеток лимфоидного узелка пейеровой бляшки тонкой кишки белой крысы после приема кларитромицина. Реакция с МКАТ к CD23, x400

Наряду с этим не являлись исключением макрофаги, на долю которых приходилось около 2,6%. Примечательно, что в их цитоплазме находились апоптотные тельца, которые, по-видимому, являлись фрагментами разрушенных лимфоцитов (рис. 3).

Следует также отметить, что реактивные центры больших лимфоидных узелков были отделены друг от друга эозинофильным белковым веществом, которое содержало инфильтрат плазматических клеток, составляющих примерно 2,8%.

Т-зависимые зоны пейеровых бляшек тонкой кишки экспериментальных животных также претерпевали некоторые изменения, которые зачастую были расширены за счет пролиферации бластных клеток, относящихся к CD3+ Т-лимфоцитам и CD79+ В-лимфоцитам.

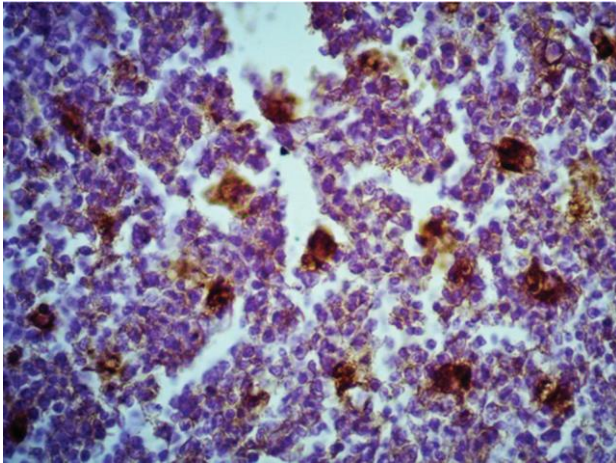


Рис. 3. Многочисленные макрофаги В-зоны лимфоидного узелка пейеровой бляшки тонкой кишки белой крысы после приема кларитромицина. Реакция с МКАТ CD 68 KP1, x400

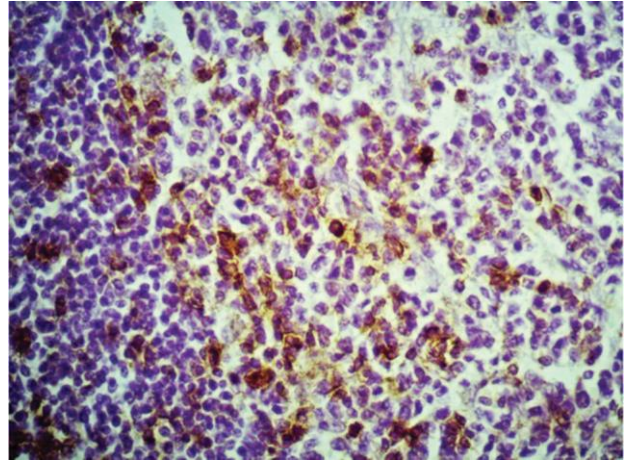


Рис. 4. Скопления плазматических клеток в- и Т-зонах лимфоидных узелков пейеровой бляшки тонкой кишки белой крысы после приема кларитромицина. Реакция с МКАТ к CD38, x400

Кроме того, в Т-зависимой зоне больших лимфоидных узелков пейеровых бляшек обнаруживались в различном количестве клетки, демонстрирующие коэкспрессию CD3 и CD68. Ранее считалось, что они являются Т-лимфоцитами, из-за их реактивности с CD3, но в настоящее время их рассматривают как плазмоцитоподобные моноциты или плазмоцитоподобные дендритные клетки, способные стимулировать к дифференцировке CD4+ Т-лимфоциты, запуская адаптивные механизмы иммунного ответа [26-28]. Таким образом им принадлежит ключевая роль связующего звена между реакциями врожденного (неспецифического) и приобретенного (специфического) иммунитета. Дополнительно к этому следует отметить, что данные клеточные элементы являются особой популяцией в иммунной системе, обеспечивающей как немедленный ответ на вторжение инфекционного агента, так и запуск последовательного каскада иммунных реакций [29, 30]. Наличие скоплений таких клеток в Т-зависимой зоне больших лимфоидных узелков можно расценивать как проявление в них реактивной активации на изменение антигенного состава кишечника при воздействии на его микрофлору антибиотика широкого спектра действия – кларитромицина, что может являться стимулом гиперплазии пейеровых бляшек в тонкой кишке.

Кроме того, в некоторых случаях в этих расширенных Т-зависимых зонах отмечается наличие бледно окрашенных интердигитирующих клеток и CD68+ макрофагов, а в промежуточной зоне между лимфоидными узелками пейеровых бляшек имели место скопления CD38+ плазматических клеток (рис. 4), однако без существенного долевого увеличения их по сравнению с контрольной группой (1,4-2,0%).

Теперь обратим внимание на апикальную зону лимфоидных узелков, которая находится в тесной консолидации с лимфоидно-ассоциированным эпителием. Здесь под его базальной мембраной обнаруживаются малые CD79+ В-лимфоциты, а также малые CD3+ Т-лимфоциты и одиночные бластные клетки. Вместе с тем в общей клеточной массе апикального отдела лимфоидных узелков присутствовали CD68+ макрофаги и наблюдалось, по сравнению с контролем, увеличение количества CD38+ плазмоцитов.

Идентификация М-клеток – опять оказалась безрезультативной, ибо при окраске гистологических срезов ПАН-цитокератином лимфоидно-ассоциированный эпителий пейеровых бляшек у экспериментальных животных, так же, как и в контрольной группе, выглядел однообразно, то есть не имел существенной селективной дифференцировки среди энтероцитов. Однако при реакции с CD68 мы обнаружили наличие в его слое клеток округлой формы со светлой цитоплазмой, в которой находился зернистый материал (рис. 5).

По нашему мнению, эти клетки скорее всего относятся к фагоцитирующим энтероцитам, но ни коим образом они не могут быть отнесены к популяции М-клеток.

Выводы. Что касается общей оценки количественных изменений в общем кооперативном составе иммунокомпетентных клеток пейеровых бляшек тонкой кишки животных после курсового приема ими кларитромицина, то ее можно получить в сопоставлении с контрольными данными, которые представлены в сводной **таблице 1**. На основании этого можно говорить, что в основном эти изменения заключались в небольшом снижении В- и Т-лимфоцитов в соответственно зависимых зонах, и

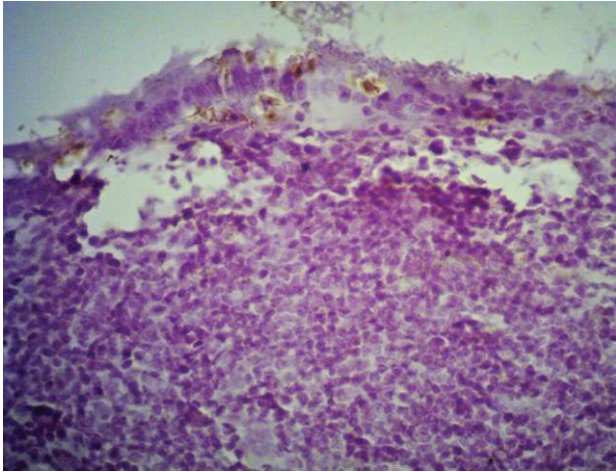


Рис. 5. Фагоцитирующие энтероциты в лимфоидно-ассоциированном эпителии пейеровой бляшки тонкой кишки белой крысы после приема кларитромицина. Реакция с МКАТ к CD68 KP1, x400

увеличении их численности в промежуточных зонах между лимфоидными узелками. Вместе с тем действие антибиотика широкого спектра действия – кларитромицина на микрофлору кишечника сопряжено с увеличением в пейеровых бляшках

доли плазмоцитов, макрофагов и классических дендритных клеток.

Но самым примечательным при этом признаком, по нашему мнению, следует считать появление в пейеровых бляшках плазмоцитоподобных дендритных клеток, которым принадлежит ключевая роль в связующем звене между механизмами врожденного (неспецифического) и приобретенного (адаптивного) иммунитета. Вместе с тем мы считаем показательным и то, что действие антибиотика приводит к фагоцитарной активации энтероцитов в лимфоидно-ассоциированном эпителии пейеровых бляшек.

Таким образом, результаты иммуногистохимического анализа подтверждают, сделанный нами прежде вывод, что кларитромицин, как антибактериальный препарат широкого спектра действия, обладает ярко выраженными иммуностимулирующими свойствами.

Перспективы дальнейших исследований. В дальнейшем планируется исследование фолликул-ассоциированного эпителия пейеровых бляшек тонкой кишки крыс с помощью метода трансмиссионной электронной микроскопии.

References

- Gagliardi A, Totino V, Cacciotti F, Iebba V, Neroni B, Bonfiglio G, et al. Rebuilding the Gut Microbiota Ecosystem. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 15(8): 1679. doi: 10.3390/ijerph15081679
- Shi N, Li N, Duan X, Niu H. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Mil Med Res*. 2017; 4: 14. doi: 10.1186/s40779-017-0122-9. PMID: PMC5408367
- DeGruttola AK, Low D, Mizoguchi A, Mizoguchi E. Current Understanding of Dysbiosis in Disease in Human and Animal Models. *Inflamm Bowel Dis*. 2016; 22(5): 1137-50. doi: 10.1097/MIB.0000000000000750
- Carding S, Verbeke K, Vipond DT, Corfe BM, Owen LJ. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microb Ecol Health Dis*. 2015; 26: 26191. doi: 10.3402/mehd.v26.26191
- Kho ZY, Lal SK. The Human Gut Microbiome - A Potential Controller of Wellness and Disease. *Front Microbiol*. 2018; 9: 1835. doi: 10.3389/fmicb.2018.01835
- Shevchenko TM, Rozhnyeva IL, Dyklenko TV, Voronkova OS. Comparative characteristics of the composition of microbial associations of the gastrointestinal tract in humans in the norm and during dysbiosis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2017; 8(4): 497-500. <https://doi.org/10.15421/021776>
- Hosseini JN, Shahabi SH. Gut Microbiota, Dysbiosis and Immune System; A Brief Review. *International Journal of Research in Applied and Basic Medical Sciences*. 2019; 5(2): 77-81.
- Yuji N, Akifumi F, Saori K, Tomohisa T. Gut Dysbiosis and Its Treatment in Patients with Functional Dyspepsia: Evidences in Pathophysiology and Treatment. In book: *Functional Dyspepsia*. 2018 Aug. p. 155-66. doi: 10.1007/978-981-13-1074-4_14
- Hryn VH. Makro-mikroskopicheskiye osobennosti rel'yefa slizyistoy obolochki zheludочно-kishechnogo trakta belykh kryс. *Svit medytsyny ta biolohiyi*. 2019; 4(70): 188-93. [Russian]
- Shepit'ko KV. Morfometrychna kharakterystyka stinky klubovoyi kyshky pry vvedenni kriokonservovanoi platsenty na tli hostroho aseptychnoho zapalennya cherevnoyi porozhnyny u shchuriv. *Svit medytsyny ta biolohiyi*. 2014; 3(45): 158-61. [Ukrainian]
- Hryn VH, Kostylenko YP, Bilash VP, Ryabushko OB. Microscopic structure of albino rats' small intestine. *Wiadomości Lekarskie*. 2019; 72(5 cz 1): 733-38. PMID: 31175762.
- Shepitko KV, Shepitko VI. Morphometric characteristic of rat small intestine wall In administration of cryopreserved placenta and aseptic inflammation of peritoneum. *Bulletin of problems of biology and medicine*. 2016; 2: 380-85.
- Hryn VH, Kostylenko YuP. Strukturna orhanizatsiya kyshkovykh krypt peyyerovykh blyashok tonkoyi kyshky bilykh shchuriv. *Morfologiya*. 2019; 13(3): 32-9. [Russian]
- Hryn VH, Kostylenko YuP, Yushchenko YuP, Lavrenko AV. General comparative anatomy of human and white rat digestive systems: a bibliographic analysis. *Wiadomości Lekarskie* 2018; 71(8): 1599-602. PMID: 30684346

15. Hryn VH, Kostylenko YuP, Yushchenko YuP, Ryabushko MM, Lavrenko DO. Comparative histological structure of the gastrointestinal mucosa in human and white rat: a bibliographic analysis. *Wiadomości Lekarskie*. 2018; 71(7): 1398-403.
16. Hryn VH. Morphometric Characteristics of the Albino Rats' Small Intestine after Administration of Clarithromycin. *Ukr. ž. med. biol. sportu*. 2020, 5(2): 58–63. [Ukrainian] DOI: 10.26693/jmbs05.02.058
17. Gromova LV, Borshchov YuYu, Yermolenko Yel, Grefner NM, Alekseyeva AS, Voyeykova AV, et al. Deystviye antimikrobnikh preparatov na kishechnyye pishchevaritel'nyye fermenty u kryss. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 11. Meditsina*. 2012; 3: 161-70. [Russian]
18. Bilash SM. Morphometric characteristics of pyloric gastric glands at experimental acute gastritis and after administration of 'platex-placental' medication on the background of experimental acute gastritis. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2013; 1(23): 84-90.
19. Levy M, Kolodziejczyk A, Thaïss C, Elinav E. Dysbiosis and the immune system. *Nature Reviews Immunology*. 2017; 17(4): 219-32. doi: 10.1038/nri.2017.7
20. *Nakaz № 249* Ministerstva osvity i nauky, molodi ta sportu Ukrayiny vid 01.03.2012 r. «Pro zatverdzhennya porядku provedennya naukovymy ustanovamy doslidiv, eksperymentiv na tvarynakh». *Ofitsiyyny visnyk Ukrayiny* 06.04.2012; 24: 82. [Ukrainian]
21. Rybakova AV, Makarova MN. Sanitarnyy kontrol' eksperimental'nykh klinik (vivariyev) v sootvetstvii s lokal'nymi i mezhdunarodnymi trebovaniyami. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii*. 2015; 4: 81-9. [Russian]
22. Antibiotiki i antimikrobnaya terapiya. Antibiotic.ru. [Internet]. [Russian]. Available from: <http://www.antibiotic.ru/books/macrolid/mclid08.shtml>
23. Piminov AF, Kuznetsova VM, Suprun EV. Antibiotik-assotsirovannaya diareya. *Pharmacy online.ua*. 2012; 38(859). [Electronic resource]. [Russian]. Available from: <https://www.apтека.ua/article/163162>
24. Ismagilova AF, Chudov IV. *Massa, mera dozirovaniya lekarstvennykh sredstv. Veterinarnaya i klinicheskaya farmakologiya, toksikologiya*. Ufa; 2011. 20 s. [Russian]
25. Avtandilov GG. *Osnovy kolichestvennoy patologicheskoy anatomii*. Monografiya. M: Meditsina; 2002. 240 s. [Russian]
26. Kaydashev IP, Shinkevich VI. Sovremennyye aspekty izucheniya mukozal'nogo immuniteta. *Dental'nyye tekhnologii*. 2006; 1-2: 18-21. [Russian]
27. Khodzhibekov RR, Khokhlova ON, Reyzis AR, Kozhevnikova GM. Plazmotsitoidnyye dendritnyye kletki i ikh rol' v immunopatogeneze virusnykh infektsiy na primere gepatita B. *Zhurnal infektologii*. 2019; 11(2): 14-9. [Russian]
28. Tsvetkov VV, Sologub TV, Tokin II. Biologiya dendritnykh kletok cheloveka i ikh rol' v infektsionnoy patologii. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik imeni akademika IP Pavlova*. 2014; 3: 68-74. [Russian]
29. Drannik GN. Sovremennyye predstavleniya o mekhanizмах vrozhdennogo i priobretennogo immuniteta i ikh vzaimodeystviye (chast' 1). *Liky Ukrayiny*. 2013; 4: 22-9. [Russian]
30. Kaydashev IP. T-kletochnaya regulyatsiya pri atopicheskikh zaboлевaniyakh. *Klinicheskaya immunologiya. Allergologiya. Infektologiya*. 2011; 9-10: 18-21. [Russian]

УДК 616.341:615.24:599.323.4

ІМУНОГІСТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ПЕЙЄРОВИХ БЛЯШОК ТОНКОЇ КИШКИ БІЛИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ПРИЙОМУ КЛАРИТРОМІЦИНУ

Гринь В. Г., Костиленко Ю. П., Шепітько К. В., Лавренко Д. О.

Резюме. Антибактеріальна терапія і передусім використання антибіотиків широкого спектру дії, частково або повністю пригнічує не лише патогенну, але і нормальну мікрофлору, що є причиною різних функціональних розладів кишкового тракту. Вкрай недостатньо і суперечливо вивчені питання, що стосуються морфофункціонального стану структурованих лімфоепітеліальних утворень кишкового тракту, з яких найбільш суттєвими є групові лімфоїдні вузлики (пейєрові бляшки).

Метою дослідження було вивчення пейєрових бляшок тонкої кишки білих щурів після прийому кларитроміцину шляхом імуногістохімічного аналізу. В експерименті задіяно 30 білих щурів-самців репродуктивного віку, масою 200,0±20,0 грам. Антибіотик широкого спектру дії (кларитроміцин, таблетки 500 мг, доза препарату 10 мг/кг) вводився тваринам перорально з їжею в режимі дворазового їх годування на добу (вранці і ввечері), протягом 10 днів. Після вівісекції проводилося вибіркоче висічення ділянок брижової частини тонкої кишки з пейєровими бляшками. Імуногістохімічні дослідження проведені в лабораторії «Прайм Тест» при кафедрі патологічної анатомії ХМАПО (м. Харків). Комплекс морфологічних досліджень проводився на мікроскопі Primo Star (Carl Zeiss) з використанням програми AxioCam (ERc 5s).

Продемонстровано, що після курсового прийому кларитроміцину зміни полягали в зниженні В- і Т-лімфоцитів у відповідно залежних зонах, і збільшенні їх чисельності в проміжних зонах між лімфоїдними вузликами. Дія кларитроміцину на мікрофлору кишечника пов'язана зі збільшенням в пейєрових бляшках кількості плазмоцитів, макрофагів і класичних дендритних клітин, а також появою плазмоцитоїдних

дендритних клітин. Дія антибіотика призводить до фагоцитарної активації ентероцитів в лімфоїдно-асоційованому епітелії пейєрових бляшок.

Ключові слова: білі щури, пейєрові бляшки, кларитроміцин, імуногістохімічний аналіз.

UDC 616.341:615.24:599.323.4

Immunohistochemical Analysis of Peyer's Patches of the Albino Rats' Small Intestine after Administration of Clarithromycin

Hryn V. H., Kostylenko Yu. P., Shepitko K. V., Lavrenko D. O.

Abstract. Antibacterial therapy, and especially the use of broad-spectrum antibiotics, partially or completely suppresses not only pathogenic, but also normal microflora, which is the cause of various functional disorders of the intestinal tract. The questions concerning the morphological and functional state of structured lymphatic epithelial formations of the intestinal tract, of which the most representative group lymphoid nodules (Peyer's patches), are extremely insufficiently and contradictory, have been studied.

The purpose of the research was to study Peyer's patches of the small intestine of white rats after taking clarithromycin using immunohistochemical analysis methods.

Material and Methods. 30 mature albino male rats weighted 200.0 ± 20.0 g were involved into the experiment. A broad-spectrum antibiotic (clarithromycin, 500 mg tablets, the dose was 10 mg/kg) was administered to animals orally with food in the regime of their two-time feeding per day (morning and evening), for 10 days. After vivisection, selective excision of sections of the mesenteric part of the small intestine with Peyer's patches was performed. Immunohistochemical studies were performed in the «Prime Test» laboratory at the Department of Pathological Anatomy Kharkov Institute of Postgraduate Education. A complex of morphological studies was carried out on a Primo Star microscope (Carl Zeiss) using the AxioCam program (ERc 5s).

Results and discussion. The study demonstrated that after the course administration of clarithromycin, the changes consisted in a decrease in B and T lymphocytes in the correspondingly dependent zones, and an increase in their number in the intermediate zones between the lymphoid nodules. The effect of clarithromycin on the intestinal microflora is associated with an increase in the number of plasmocytes, macrophages and classical dendritic cells in Peyer's patches, as well as the appearance of plasmacytoid dendritic cells. The action of the antibiotic leads to the phagocytic activation of enterocytes in the lymphoid-associated epithelium of Peyer's patches.

Conclusion. The results of immunohistochemical analysis confirm our previous conclusion that clarithromycin, as an antibacterial drug with a wide spectrum of action, has pronounced immunostimulating properties.

Keywords: white rats, Peyer's patches, clarithromycin, immunohistochemical analysis.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 25.01.2020 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування