

ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МАКРОФАГАЛЬНОЇ ЛАНКИ МІСЦЕВОГО ЗАХИСТУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ КЛИНОПОДІБНОЇ ПАЗУХИ У ЛЮДЕЙ ЗРІЛОГО ВІКУ ЗА ДОПОМОГОЮ МАРКЕРА CD-68

Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

Дана робота є фрагментом наукової теми «Морфологія судинно-нервових взаємовідношень органів голови та шиї людини в нормі та під дією зовнішніх чинників у віковому аспекті. Створення та модифікація існуючих хірургічних шовних матеріалів і експериментально-морфологічне обґрунтування їх використання в клініці», № держ. реєстрації 0107U001657.

Вступ. Одними з основних клітин імунної системи є мононуклеарні фагоцити, які представлені моноцитами периферичної крові і тканинними макрофагами (макрофаги сполучної тканини, макрофаги печінки, альвеолярні макрофаги легень, макрофаги селезінки і лімфатичних вузлів, макрофаги серозних і слизових оболонок, клітини мікроглії ЦНС, остеобласти) [1,3,5]. Дані клітини мають високу фагоцитарну здатність і бактерицидність, приймають участь в індукції гуморального та клітинного імунітету, мають вплив на розвиток імунних реакцій, а також являються ефекторами цих реакцій (вони здатні знищувати чужорідні, злаякісні і апоптозні клітини) [2,4,6]. Тому сучасна імунологія, завдяки новим імуногістохімічним методам, має можливість постійно поновлювати знання відносно макрофагальних механізмів імунного статусу окремих органів і тканин [7]. В літературі досить мало уваги приділяється дослідженню внутрішньоепітеліальних макрофагів слизових оболонок верхніх дихальних шляхів.

Мета роботи – дослідити особливості розташування внутрішньоепітеліальних макрофагів в різних ділянках слизової оболонки клиноподібної пазухи людини.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження даної роботи була слизова оболонка клиноподібної пазухи 30 людей, померлих від причин не пов'язаних з ЛОР-патологією. Забір слизової оболонки клиноподібної пазухи відбувався в умовах приміщення судово-медичного моргу Бюро судово-медичної експертизи Управління Охорони Здоров'я Полтавської обласної державної адміністрації. Дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04. 04. 1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних

досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), а також наказу МОЗ України № 690 від 23. 09. 2009 р.

Для отримання слизової оболонки ми використовували доступ до клиноподібної пазухи, запропонований Абрикосовим А. И. (1948). Після цього за допомогою шприца на 1-2 хв. вводили у пазуху 2мл 10% розчин формаліну для фіксації слизової оболонки і виконували забір тканини з передньої, задньої, медіальної, латеральної і нижньої стінок клиноподібної пазухи. В подальшому тканини заключали в парафін за загальновідомою схемою.

Для проведення імуногістохімічного дослідження використовували парафінові блоки слизової оболонки клиноподібної пазухи людини. Отримували зрізи за допомогою мікротому зі станцією прийому зрізів (Microm HM-340), що дозволило готувати серійні зрізи. В нашому дослідженні зрізи товщиною 4-6 мкм наносили на спеціальні адгезивні предметні стекла SuperFrost Plus, потім депарафінізували відповідно до прийнятих стандартів. В роботі в якості первинних використовувалися моноклональні антитіла до CD-68 – маркер макрофагів, гістіоцитів (клон KP1, Dako) [8,9,10,11]. Ідентифікація реакції проводилась завдяки нанесенню хромогену (DAB (Lab Vision)) під контролем мікроскопа протягом від 20 секунд до 3 хвилин, з проявом у вигляді темно-коричневого забарвлення ядер специфічних структур [2,4,5].

Для диференціювання структур тканин зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Маєра протягом 1-3 хвилин. Наступна дегідратація і включення у бальзам здійснювалися згідно розповсюдженим методикам.

Мікроскопію проводили за допомогою світлового мікроскопа Leica DMLS з використанням об'єктивів 410, 420, 440, 4100.

Результати досліджень та їх обговорення. Як було відомо, імунологічний статус в епітеліальному шарі псевдобагатошарового війчастого циліндричного епітелію забезпечується клітинами-репрезентантами імунологічного нагляду, так званими внутрішньоепітеліальними макрофагами. Виходячи з даного теоретичного положення, нами вивчена, завдяки імуногістохімічному маркеру CD-68, локалізація даних клітин в ділянках слизової оболонки клиноподібної пазухи представлених переважно

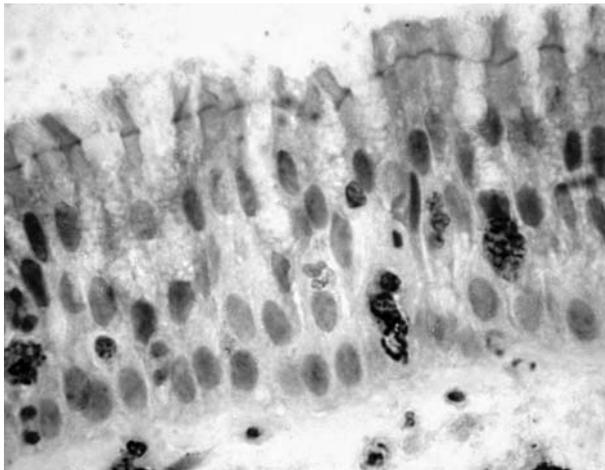


Рис. 1. Псевдобагатошаровий війчастий циліндричний епітелій з перевагою війчастих клітин. Макрофаги. Забарвлення СД-68. Збільшення 100Ч10.

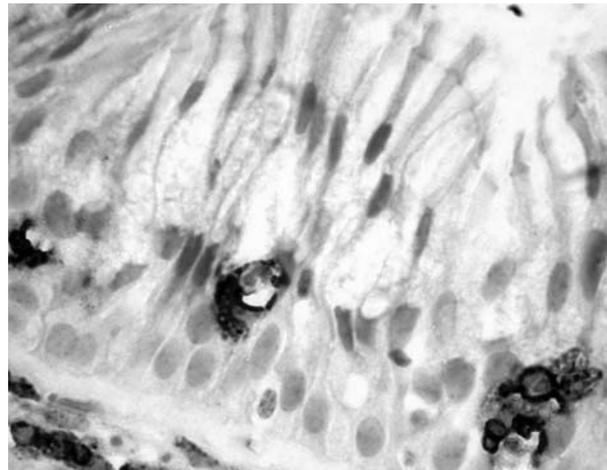


Рис. 2. Псевдобагатошаровий війчастий циліндричний епітелій з переважним розташуванням келихоподібних клітин. Макрофаги. Забарвлення СД-68. Збільшення 100Ч10.

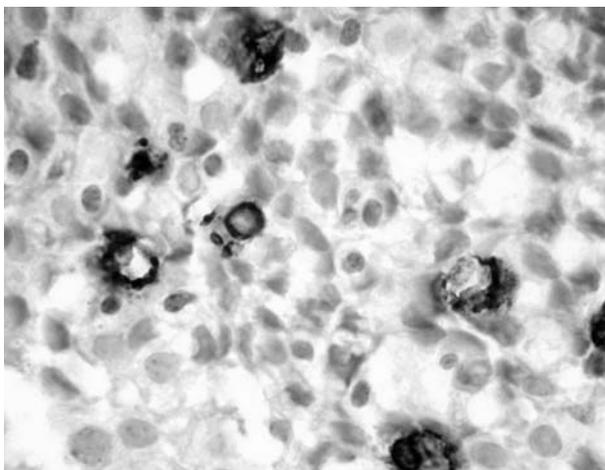


Рис. 3. Будова слизової оболонки клиноподібної пазухи в зоні росту епітелію. Макрофаги. Забарвлення СД-68. Збільшення 100Ч10.

війчастими або келихоподібними клітинами та в зонах росту. Встановлено, що в слизовій оболонці з переважним розташуванням війчастих клітин значна кількість внутрішньоепітеліальних макрофагів, що мають інтенсивне темно-коричнє забарвлення цитоплазми. Дані клітини локалізуються як поблизу базальної мембрани, так і в середніх, та поверхневих шарах, розташовуючись між війчастими клітинами (рис. 1).

Подібна закономірність локалізації макрофагів спостерігається і в зонах псевдобагатошарового війчастого циліндричного епітелію, представленого

келихоподібними клітинами, але кількість їх менша. Так на рис. 2 представлені внутрішньоепітеліальні макрофаги забарвлені темно-коричневим кольором, які локалізуються як між келихоподібними клітинами, так і в підлеглий до епітелію власній пластинці слизової оболонки.

Нарешті в зонах росту псевдобагатошарового війчастого циліндричного епітелію, на відміну від попередніх ділянок, макрофаги у вигляді темно-коричневих експресуючих СД-68 структур локалізуються як серед вставних клітин, так і серед мікрворсинчатих клітин. Перші з них мають округле ядро, останні витягнуте або овальне ядро (рис. 3). Визначено, що дані клітини мають моноцитарне походження внаслідок виходу з просвіту судин мікроциркуляторного русла.

Висновки. Проведені імуногістохімічні дослідження виявили розташування внутрішньоепітеліальних макрофагів в різних ділянках епітеліально-го шару слизової оболонки клиноподібної пазухи. В ділянках з переважним вмістом війчастих клітин кількість макрофагів більша ніж в місцях здебільше представлених келихоподібними клітинами та зонах росту епітелію. На нашу думку, в цих місцях імунний контроль здійснюється за рахунок інтеграції Т- і В-лімфоцитів.

Перспективи подальших досліджень. Провести кількісну оцінку тканинних макрофагів слизової оболонки різних стінок клиноподібної пазухи людини та дослідити особливості всіх ланок імунного нагляду в псевдобагатошаровому війчастому циліндричному епітелії клиноподібної пазухи людини.

Література

1. Изучение состояния макрофагального звена местного иммунитета у часто болеющих детей с патологией ЛОР-органов / М. З. Саидов, Ю. А. Джамалутдинов, Х. Ш. Даудов [и др.] // Иммунология. – 2007. – Т. 28, №5. – С. 303-307.
2. Иммуногистохимические показатели местного иммунитета у часто болеющих детей / М. З. Саидов, П. Ю. Амирова, Г. Б. Элькун [и др.] // Иммунология. – 2006. – Т. 27, №2. – С. 108-112.

3. Иммунная система слизистой оболочки и ассоциированная лимфоидная ткань: механизмы взаимодействия в норме и при патологии, пути коррекции / Л. С. Овчаренко, А. А. Вертегел, Т. Г. Андриенко [и др.] // Кліні. імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2008. – № 4(15). – С. 25-30.
4. Имунологія (в 3-х т.) / Под ред. У. Пола. – М. : Мир, 1988. – Т. 1. – 473 с.
5. Holness C. L. Macrosialin, a mouse macrophage-restricted glycoprotein, is a member of the lamp / Igp family / C. L. Holness, R. P. da Silva, J. Faweett, S. Gordon, D. L. Simmons // J. Biol. Chem. – 1993. – Vol. 268. – P. 9661-9699.
6. Page R. C. The macrophage as a secretory cell / R. C. Page // Int. Rev. Cytol. – 1978. – Vol. 52. – P. 119.
7. Saito N. Ultrastructural localization of the CD-68 macrophage-associated antigen in human blood neutrophils and monocytes / N. Saito, K. A. Pulford, J. Breton-Gorius [et al.] // Am. J. Pathol. – 1991. – Vol. 139. – P. 1053-1059.

УДК [611. 21+611. 018]:616-053. 9

ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МАКРОФАГАЛЬНОЇ ЛАНКИ МІСЦЕВОГО ЗАХИСТУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ КЛИНОПОДІБНОЇ ПАЗУХИ У ЛЮДЕЙ ЗРІЛОГО ВІКУ ЗА ДОПОМОГОЮ МАРКЕРА CD-68

Проніна О. М., Совгіря С. М., Пирог-Заказнікова А. В., Половик О. Ю., Винник Н. І.

Резюме. Результати імуногістохімічних досліджень різних ділянок слизової оболонки клиноподібної пазухи людини з використанням маркера CD-68 дозволили встановити закономірності розташування внутрішньоепітеліальних макрофагів в псевдобогатошаровому війчастому циліндричному епітелії: більшість макрофагів розташовується в ділянках, представлених війчастими клітинами. Ділянки, представлені келихоподібними клітинами та в зонах росту, мають меншу кількість макрофагальних клітин, що, на нашу думку, пояснюється імунологічним наглядом завдяки інтеграції різних видів лімфоцитів.

Ключові слова: макрофаг, псевдобогатошаровий війчастий циліндричний епітелій, CD-68.

УДК [611. 21+611. 018]:616-053. 9

ІМУНОГІСТОХІМІЧЕСЬКЕ ІССЛЕДУВАННЯ МАКРОФАГАЛЬНОГО ЗВЕНА МЕСТНОЇ ЗАЩИТИ СЛИЗИСТОЇ ОБОЛОНКИ КЛИНОВИДНОЇ ПАЗУХИ У ЛЮДЕЙ ЗРЕЛОГО ВОЗРАСТА С ПОМОЦЬЮ МАРКЕРА CD-68

Проніна Е. Н., Совгіря С. Н., Пирог-Заказнікова А. В., Половик А. Ю., Винник Н. И.

Резюме. Результати імуногістохімічних досліджень різних часток слизової оболонки клиновидної пазухи людини з використанням маркера CD – 68 дозволили встановити закономірності розташування внутрішньоепітеліальних макрофагів в псевдомногослойном реснитчатом циліндричному епітелії: більшість макрофагів розташовується в частках, представлених реснитчастими клітинами. Частки, представлені бокаловидними клітинами і зони росту, мають менше кількість макрофагальних клітин, що, на нашу думку, пояснюється імунологічним надзором завдяки інтеграції різних видів лімфоцитів.

Ключевые слова: макрофаг, псевдомногослойный реснитчатый цилиндрический эпителий, маркер CD-68.

UDC [611. 21+611. 018]:616-053. 9

Immunohistochemical Study of Macrophage Link of Local Protection of Sphenoidal Sinus Mucosa in Elderly People using Cd-68 Marker

Pronina O. M., S. N. Sovhyrya, Pyrog-Zakaznikova A. V., Polovik A. Yu., Vinnik N. I.

Abstract. *The purpose of the research* was to study the features of localization of infraepithelial macrophages in various areas of human sphenoidal sinus mucosa.

The object and methods of research. The object of research was the sphenoidal sinus mucosa of people, died of circumstances, not connected with ENT-pathology. Homogeneous antibodies have been used as primary ones to the CD-68 markers of macrophages, histiocytes (KP1-clone, Dako).

As was known, immunological status in the epithelial layer of pseudostratified ciliated cylindrical epithelium is provided by the cells, representatives of immunological monitoring, called infraepithelial macrophages. Judging by the theoretical statement, localization of these cells, mostly ciliated and goblet ones, in the areas of sphenoidal sinus mucosa and growth zones has been studied due to CD-68 immunohistochemical marker.

Results of the research and their discussions. The results of immunohistochemical studies of various areas of human sphenoidal sinus mucosa, using the CD-68 marker, founded the mechanism of localization of infraepithelial macrophages in the pseudostratified ciliated cylindrical epithelium: most of the macrophages are located in the areas, covered by the ciliated cells. Areas, covered by the goblet cells and in the growth zones, have less macrophage cells that, in our opinion, is explained by the immunological monitoring due to integration of various types of lymphocytes.

Conclusions. It is planning to conduct quantitative evaluation of tissue macrophages of mucosa of various walls of human sphenoidal sinus and study the features of all chains of immunological monitoring in the pseudostratified ciliated cylindrical epithelium of human sphenoidal sinus.

Key words: macrophage, pseudostratified ciliated cylindrical epithelium, CD – 68 marker.

Рецензент – проф. Старченко І. І.

Стаття надійшла 21. 01. 2014 р.