

УДК 611.018.24:613.618.4:549.67

Н.П. Бгатова¹, К.С. Голохваст², А.В. Бгатов³, А.М. Паничев⁴, Н.А. Пальчикова⁵

¹НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН (630117 г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2),

²Дальневосточный государственный технический университет (690950 г. Владивосток, ул. Пушкинская, 37),

³Новосибирский государственный аграрный университет (630039 Новосибирск, ул. Добролюбова, 162), ⁴Тихоокеанский институт географии ДВО РАН (690041 Владивосток, ул. Радио, 7), ⁵Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН (630117 г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2)

МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ПРИРОДНОГО ЦЕОЛИТА НА СТРУКТУРУ ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШЕК В УСЛОВИЯХ НАКОПЛЕНИЯ ЦЕЗИЯ

Ключевые слова: цезий-137, природный цеолит, удельная радиоактивность, лимфоидная ткань.

Рассматривается структурная организация иммунных структур пищеварительной системы – пейеровых бляшек в условиях накопления в организме экспериментальных животных (крыс Вистар) радиоактивного цезия и добавления в рацион природного цеолита. Исследована динамика выведения цезия-137 и удельной радиоактивности крови, кишечника, пейеровых бляшек. Выявлено корригирующее влияние природного цеолита на структуру лимфоидной ткани бляшек, свидетельствующее о сохранении их иммунной функции.

При накоплении в организме радиоактивных веществ развиваются процессы атрофии и дегенерации в лимфоидных органах, происходит истощение зародышевых центров и, как следствие, уменьшение резистентности организма к инфекционным агентам и снижение иммунного ответа [6, 7, 10]. Одним из способов выведения радионуклидов является использование сорбентов с ионообменными свойствами [5, 9]. К таким средствам относятся природные ионообменники и сорбенты – цеолиты [3].

Целью данной работы был анализ удельной радиоактивности и структуры лимфоидных фолликулов пейеровых бляшек при использовании природного цеолита в условиях накопления в организме радиоактивного цезия.

Материал и методы. Исследование проводили в специально оборудованном по 2 классу работ с радиоактивными веществами помещении межинститутской радиоизотопной лаборатории СО РАМН совместно с сотрудниками лаборатории эндокринологии НЦ клинической и экспериментальной медицины СО РАМН (руководитель – д-р биол. наук В.Г. Селятицкая).

В эксперименте использовали 136 половозрелых крыс-самцов линии «Вистар». Стандартный рацион (40 г на животное) крысы получали ежедневно при свободном доступе к воде. В качестве радионуклида использовали раствор хлористого цезия с изотопом цезий-137 и удельной активностью 1,9 ТБк/л (соответствует ТУ 95.1203-84). Из фабричного был приготовлен рабочий раствор с удельной активностью 363,5 МБк/л. Рабочий раствор вводили животным

через зонд рег ос из расчета 0,5 мл на 100 г массы тела, что соответствовало 182 кБк на 100 г массы тела. Введение радиоактивного вещества проводили с 10 до 11 часов, а в 16 часов давали первую порцию сорбента с кормом.

Животных разделили на 2 группы: 1) крысы, получавшие стандартный виварный рацион, и 2) крысы, получавшие после затравки цезием-137 цеолит.

Использовали цеолит Холинского месторождения (Бурятия), состоящий на 60% из клиноптилолита и содержащий 5% монтмориллонита и до 35% кварца, кристобалита и вулканического стекла [1]. Цеолит добавляли к пище ежедневно перед раздачей корма из расчета 6% сорбента от сухой массы корма. Животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом на 3, 7 и 14-е сутки после начала исследования. Измерение радиоактивности проводили на счетчике «Гамма-12», используя в качестве стандарта исходный раствор ¹³⁷Cs. Объектами исследования служили образцы подвздошной кишки с пейеровыми бляшками.

Для светооптического исследования образцы органов фиксировали в 1% растворе OsO₄ на фосфатном буфере (рН 7,4), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон. Из полученных блоков готовили срезы толщиной 1 мкм, которые окрашивали метиленовым голубым и изучали под световым микроскопом. Соотношение клеток в лимфоидной ткани определяли с помощью светооптического микроскопа при использовании квадратной тестовой системы (площадью 6400 мкм²) из 25 точек и 5 линий.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием программ Microsoft Excel XP и Statistica 6.0. Оценку достоверности различий определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования. При добавлении к рациону цеолита в 1-е сутки у крыс было выведено в 4 раза больше радиоактивности, чем при стандартном рационе. На 2-е сутки выведение возросло в 10, на 3-и – в 14 раз. В последующие дни интенсивность выведения радиоактивности значительно снижалась. При исследовании удельной радиоактивности крови также было отмечено ее более активное снижение при использовании рациона с цеолитом. На 3-и сутки

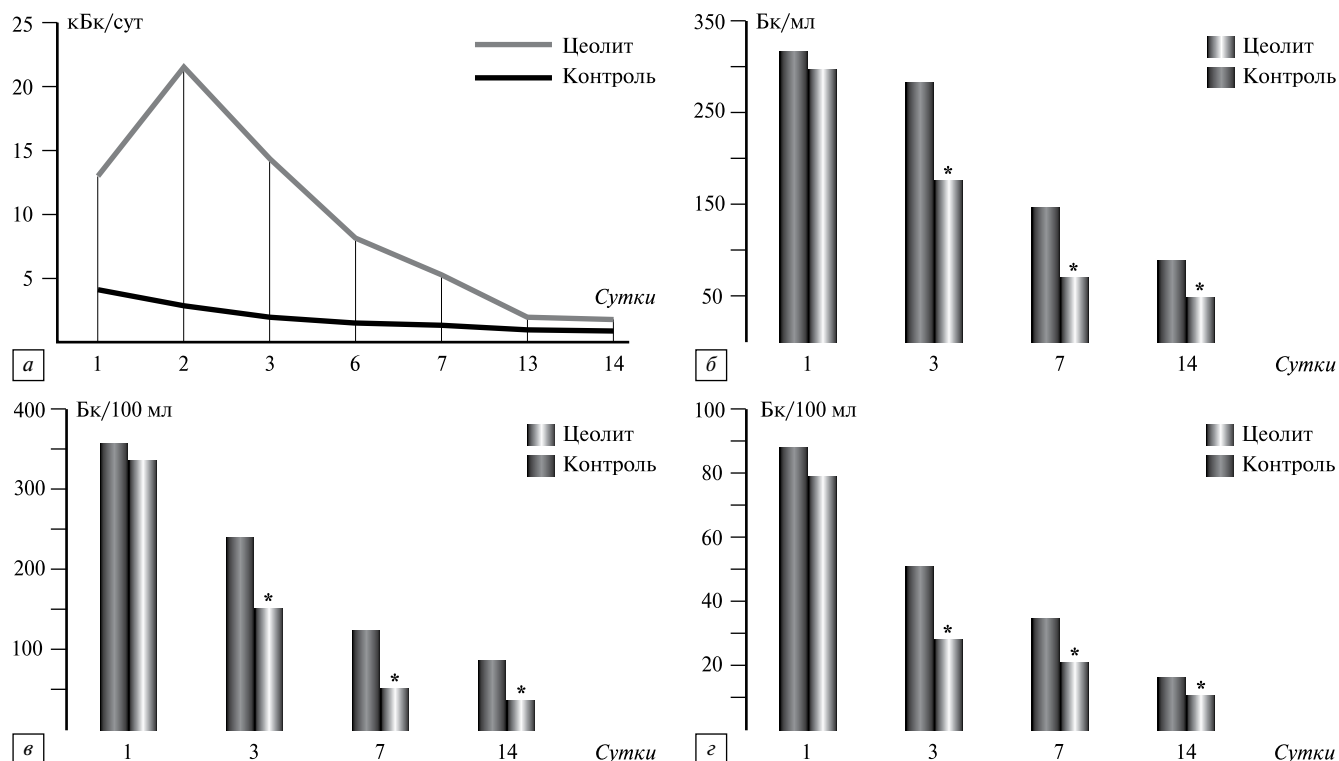


Рис. 1. Динамика выведения радиоактивного цезия с экскрементами (а) и удельная радиоактивность крови (б), кишечника (в) и пейеровой бляшки (г) крыс, получавших с рационом цеолит («звездочкой» отмечены достоверные отличия от соответствующих значений в контроле).

применения цеолита удельная радиоактивность крови была меньше, чем у крыс контрольной группы на 38%, на 7-е сутки – на 52% и на 14-е сутки – на 45%. Удельная радиоактивность кишечника к 14-м суткам снизилась в 9,6 раза, а у крыс, получавших стандартный рацион, – в 4,2 раза. При исследовании удельной радиоактивности пейеровых бляшек было выявлено на 45% большее ее снижение у животных, получавших с рационом цеолит, на 3-и сутки исследования, на 40% большее – на 7-е сутки и на 32% большее – на 14-е сутки (рис. 1).

У животных, получавших стандартный виварный рацион, в условиях накопления цезия-137 в пейеровых бляшках происходило снижение доли бластных клеток и малых лимфоцитов, а также количества митозов и возрастало содержание макрофагов (рис. 2). Отмечался стаз эритроцитов. Наблюдали апоптоз отдельных лимфоцитов. В связи со снижением доли лимфоидных клеток в структуре пейеровых бляшек в большей степени выявлялись ретикулярные клетки (рис. 3, а). Описанные структурные изменения в пейеровых бляшках свидетельствовали о подавлении пролиферации лимфоцитов и снижении их иммунной функции.

В условиях добавления к рациону природного цеолита достоверных изменений в структуре пейеровых бляшек не регистрировалось. Сохранялись на уровне нормы количества бластных форм, митозов, малых лимфоцитов и макрофагов (рис. 2). Наблюдали скопления малых лимфоцитов. В меньшей степени выяв-

лялись ретикулярные клетки (рис. 3, б). Структурные признаки состояния пейеровых бляшек свидетельствовали о сохранении иммунной функции органа.

Обсуждение полученных данных. Пейеровы бляшки являются иммунными структурами желудочно-кишечного тракта [11]. Они расположены в каудальном отделе подвздошной кишки в виде большого количества лимфоидных фолликулов, образующих агрегаты, занимающие всю толщину собственного слоя слизистой, а также подслизистой основы. Эпителий кишки, соприкасающийся с лимфоидной тканью в собственном слое, не содержит бокаловидных клеток, но инфильтрирован многочисленными лимфоцитами. Эпителиальные клетки с характерным складчатым рельефом поверхности (М-клетки) захватывают антиген в просвете кишки и мигрируют из эпителия крипт в лимфоидную ткань бляшки, где передают макрофагам антиген, который затем предьявляется Т-лимфоцитам [14].

Появление центров размножения рассматривается как реакция лимфоидной ткани бляшек на бактериальную флору и продукты ее жизнедеятельности в просвете кишки [12]. Кроме этого, активирующее воздействие на лимфоидную ткань оказывают компоненты пищи, продукты ее переваривания и другие вещества, попадающие в макроорганизм извне, а также вещества со свойствами антигенов, образовавшиеся в самом организме. Активная иммунная защита слизистой оболочки обеспечивается секрецией антител иммуноглобулина А. Эта первая

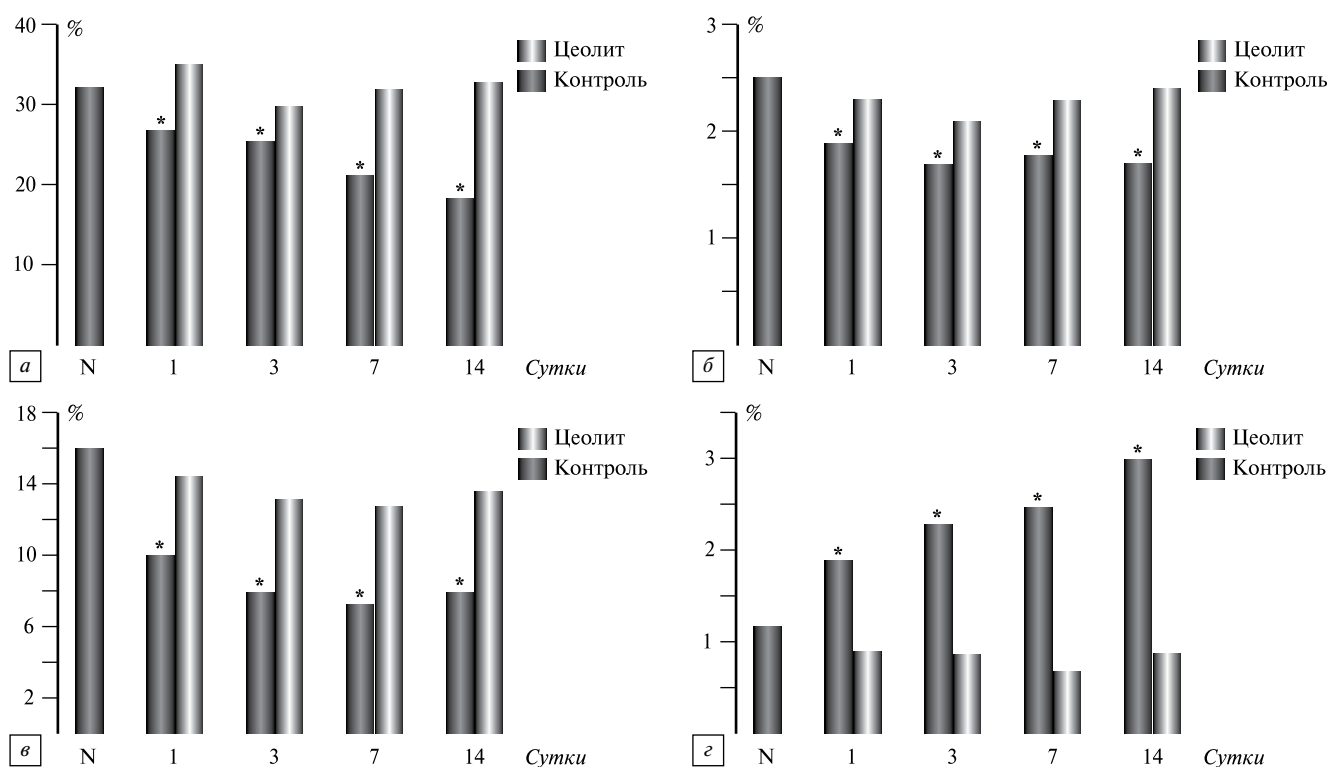


Рис. 2. Количество бластов (а), митозов (б), малых лимфоцитов (в) и макрофагов (г) в лимфоидной ткани пейеровых бляшек крыс, получавших с рационом цеолит при накоплении в организме радиоактивного цезия («звездочкой» отмечены достоверные отличия от соответствующих значений в условиях нормы – N).

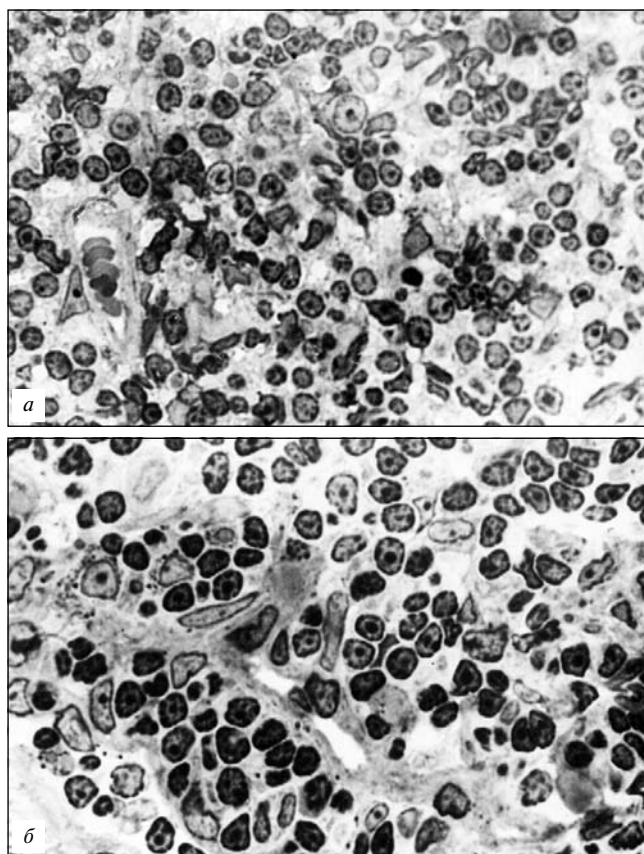


Рис. 3. Фрагменты пейеровой бляшки крысы, получавшей стандартный рацион (а), и крысы, получавшей цеолит при накоплении в организме радиоактивного цезия (б).

Окраска толуидиновым синим, $\times 400$.

линия защиты связана с взаимодействием с системой В-клеток слизистой оболочки и гликопротеинов эпителия. Это количественно наиболее важный рецептор иммунной системы, так как он ответствен за внешний транспорт локально продуцируемого полимерного иммуноглобулина А, который является важным гуморальным медиатором иммунной системы. В-клетки, ответственные за местную продукцию иммуноглобулинов, первоначально стимулируются в пейеровых бляшках, откуда мигрируют как клетки памяти во все экзокринные ткани организма [14]. Хотя многое еще непонятно в процессах поглощения антигенов, стимуляции и подавлении иммунного ответа, поддержания нормального гомеостаза в слизистой оболочке пищеварительного тракта [15], можно утверждать, что пейеровы бляшки играют важную роль в формировании иммунного ответа слизистой оболочки кишечника [13].

При пероральном поступлении радионуклидов наблюдается поражение слизистой оболочки пищеварительного тракта и его региональных лимфоузлов, а также паренхимы печени [8]. Действие радионуклидов приводит к нарушению обмена углеводов, липидов, белков, изменению активности ферментов и накоплению в организме активных метаболитов [6]. Одним из патогенетических механизмов осложнений и исхода поражений является нарушение иммунной реактивности. Это одна из наиболее ранних реакций на внутреннее облучение. Деструктивные и воспалительные процессы способствуют интоксикации

и иммунологической перестройке организма — ауто-сенсibilизации и образованию аутоантител, оказывающих цитотоксическое действие [10].

Механизм декорпорации радионуклидов при применении энтеросорбции требует дальнейшего изучения, однако анализ полученных данных позволяет сделать вывод о том, что имеет место как прямое связывание их в просвете кишечника сорбентом, так и непрямая (опосредованная) декорпорация за счет общедетоксирующего действия энтеросорбции [9]. Пористая микроструктура и способность к ионообмену определяют уникальные адсорбционные и катионообменные свойства цеолитов [7].

При использовании с рационом природного цеолита удаление радионуклида происходило преимущественно с экскрементами, т.е. катионы цезия встраивались на места свободных связей кристаллической решетки минерала, решающее значение в этом случае имеют ионообменные свойства сорбента. В связи с тем, что действие инкорпорированных радионуклидов проявляется по мере накопления суммарной энергии распада изотопа и эффект воздействия нарастает во времени, крайне важным является быстрое удаление их из организма. Как показали наши данные, более эффективное снижение радиоактивности организма и отдельных структур, в частности пейеровых бляшек, при добавлении к рациону цеолита способствует сохранению их структуры и, по-видимому, функции. Поэтому целесообразность использования природного ионообменника и сорбента при накоплении радиоактивного цезия несомненна.

Ранее было показано, что при профилактическом введении в рацион животных цеолита в реактивных центрах пейеровых бляшек происходило увеличение количества бластных форм клеток и возрастало количество митозов [2]. Имеются данные о протективном, корригирующем влиянии на лимфоидные органы природного цеолита при его использовании в условиях интоксикации карбофосом [4]. Поэтому цеолиты можно рассматривать как природные минералы, обладающие иммуномодулирующими свойствами.

Литература

1. Бгатов В.И., Ван А.В. Состав и распространение природных ионитов на юге Сибири // *Лечебно-оздоровительные факторы Алтая: сб. науч. трудов. Новосибирск, Белокуриха: РУСО РАМН, 1993. С. 8–9.*
2. Бгатова Н.П., Новоселов Я.Б. Использование биологически активных пищевых добавок на основе природных минералов для детоксикации организма. *Новосибирск: Экспресс, 2000. 236 с.*
3. Бгатова Н.П., Селятицкая В.Г., Пальчикова Н.А., Одинов С.В. Стимуляция декорпорации цезия-137 препаратами с ионообменными и сорбционными свойствами и структурная организация органов пищеварительной системы // *Медицинские и экологические эффекты ионизирующей радиации: материалы I Международной научно-практической конференции. Северск—Томск, 2001. С. 20–21.*
4. Горчаков В.Н., Бгатова Н.П., И.Е. Пристяжнюк И.Е. и др. Маркеры и протекторы радио- и токсикологического прессинга на организм // *Проблемы сорбционной детоксикации внутренней среды организма: материалы международного симпозиума. Новосибирск, 1995. С. 78–83.*
5. Куеня А.И., Кириченко О.В. Уровень инкорпорации ¹³⁷Cs организмом детей, проживающих на различной по плотности загрязненности радионуклидами территории // *Материалы научно-практической конференции. Гомель. 2003. С. 73–75.*
6. Кузин А.М., Копылов В.А. Радиотоксины. М.: Наука, 1983. 174 с.
7. Паничев А.М., Богомолов Н.И., Бгатова Н.П. и др. Цеолиты в хирургии. Владивосток: ДВГТУ, 2004. 120 с.
8. Пинчук В.Г., Никитченко В.В., Гольдшмидт Б.Я. и др. Биологические эффекты у животных, в связи с аварией на Чернобыльской АЭС. Сообщение 4. Морфологические и ультраструктурные изменения печени крыс // *Радиобиология. 1991. № 4. С. 648–653.*
9. Хотимченко Ю.С., Одинова М.В., Ковалев В.В. Полисорббит. Томск: НТЛ, 2001. 132 с.
10. Шубик В.М. Иммунологические исследования в радиационной гигиене. М: Энергоатомиздат, 1987. 144 с.
11. MacDonald T.T. The mucosal immune system // *Parasite Immunol. 2003. Vol. 25, No. 5. P. 235–246.*
12. Makala L.H., Suzuki N., Nagasawa H. Peyer's patches: organized lymphoid structures for the induction of mucosal immune responses in the intestine // *Pathobiology. 2002–2003. Vol. 70, No. 2. — P. 55–68.*
13. Tsuda M., Hosono A., Yanagibashi T., Hachimura S. et al. Intestinal Bifidobacterium association in germ-free T cell receptor transgenic mice down-regulates dietary antigen-specific immune responses of the small intestine but enhances those of the large intestine // *Immunobiology. 2009. Vol. 214, No. 4. P. 279–289.*
14. Tsuji M., Komatsu N., Kawamoto S., Suzuki K. et al. Preferential generation of follicular B helper T cells from Foxp3⁺ T cells in gut Peyer's patches // *Science. 2009. Vol. 323, No. 5920. P. 1488–1492.*
15. Vivier E., Spits H., Cupedo T. Interleukin-22-producing innate immune cells: new players in mucosal immunity and tissue repair? // *Nat Rev Immunol. 2009. Vol. 9, No. 4. P. 229–234.*

Поступила в редакцию 10.04.2009.

IMMUNOMODULATING EFFECT PRODUCED BY NATURAL ZEOLITE ON PEYER'S PATCHES STRUCTURE UNDER CAESIUM ACCUMULATION

N.P. Bgatova¹, K.S. Golokhvast², A.V. Bgatov³, A.M. Panichev⁴, N.A. Palchikova⁵

¹ Research Centre of Clinical and Experimental Lymphology, RAMS, Siberian Branch (2 Academician Timakov St. Novosibirsk 630117 Russia), ² Far Eastern State Technical University (37 Pushkinskaya St. Vladivostok 690990 Russia), ³ Novosibirsk State Agrarian University (162 Dobrolyubov St. Novosibirsk 630039 Russia), ⁴ Pacific Institute of Geography, FEB RAS (7 Radio St. Vladivostok 690041 Russia), ⁵ Scientific Centre of Clinical and Experimental Medicine RAMS

Summary — The paper gives consideration to the immunity-related structural elements of digestive system — Peyer's patches. The authors were aimed to study accumulation of radioactive caesium in organisms of experimental animals (Wistar rats) when supplementing their diet with natural zeolite. Researching into dynamics of excreting caesium-137 and specific radioactivity of blood, bowels and Peyer's patches allowed to detect corrective effect produced by the natural zeolite on the patch lymphoid tissue structure being indicative of the immune function maintenance.

Key words: caesium-137, natural zeolite, specific radioactivity, lymphoid tissue.

Pacific Medical Journal, 2009, No. 3, p. 68–71.