

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ КЛУБОВИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ ВАГІТНИХ БІЛИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ АНТИГЕННОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ОРГАНІЗМУ**Маляр Вол.В.***Ужгородський національний університет, медичний факультет, кафедра анатомії людини та гістології, м. Ужгород*

РЕЗЮМЕ: в експерименті на вагітних білих щурах-самицях репродуктивного віку вивчено зміни структурних параметрів ділянкових лімфатичних вузлів матки в динаміці після введення антигена „Імуноглобуліну людини нормального”. Встановлено, що після антигенної стимуляції організму відбуваються фазові зміни відносних площ структурних компонентів клубових лімфатичних вузлів та щільність їхнього клітинного складу. Найпомітніші зміни відбуваються через 7 діб після введення антигена, коли максимально збільшується відносна площа лімфоїдних вузликів у 1,3 разу, мозкових тяжів у 1,2 разу та зменшується кіркове плато у 1,9 разу, а паракортикальний шар у 1,5 разу. Достовірної різниці між змінами даних показників в лівому та правому клубовому вузлі не виявлено.

Ключові слова: вагітність, клубові лімфатичні вузли, антигенна стимуляція

Вступ. Лімфатичні вузли як вторинні лімфоїдні органи є своєрідними біологічними „фільтрами”, в яких знешкоджуються антигени різної природи та формується конкретна імунна відповідь [1, 7]. Відомо, що у лімфатичних вузлах відбувається антигензалежна диференціація та проліферація субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів, а також утворення антитіл, що забезпечує імунну рівновагу в організмі [2, 3].

Незважаючи на чисельні наукові праці, присвячені проблемі імунології репродукції [6, 11], до цього часу не вивчені морфологічні зміни структурних компонентів та їх клітинний склад у ділянкових вузлах матки після імунної стимуляції під час вагітності як в експерименті, так у клініці.

Мета дослідження: вивчити в динаміці зміни відносних площ структурних компонентів клубових лімфатичних вузлів та їхнього клітинного складу у вагітних тварин після антигенної стимуляції організму.

Матеріал та методи. Дослідження проведено на вагітних білих щурах-самицях репродуктивного віку. Вагітним тваринам через 7 діб після запліднення вводили антиген „Імуноглобуліну людини нормального” виробництва „Біофарма” (м. Київ) підшкірно в тильну поверхню стопи лівої задньої кінцівки. Цей антиген обрано нами тому, що він має високі антигенні властивості, низьку пірогенну і токсичну дію, його використовують як універсальний стимулятор імунних процесів в організмі [4].

Тварин утримували в умовах віварію Ужгородського національного університету на стандартному раціоні під наглядом ветеринара [12]. Догляд за тваринами і всі маніпуляції проводили у відповідності з положеннями „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985 р.); Гельсінської декларації Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000 р.); „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим націона-

льним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.); Закону України „Про захист тварин від жорстокого поводження” (№ 692 від 21.02.2006).

Клубові лімфатичні вузли забирали у тварин під ефірним наркозом, фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у етилових спиртах і заливали в парафінові блоки. Поперечні гістологічні зрізи лімфатичних вузлів на рівні їхніх воріт товщиною 5-7 мкм фарбували гематоксилін-еозином та азур II-еозином загальноприйнятим методом.

На гістологічних зрізах лімфатичних вузлів за допомогою періодичної морфометричної сітки методом Стефанова С.Б. [8] визначали відносні площі структурних компонентів клубових лімфатичних вузлів у відсотках (капсули, кіркових та мозкових перетинок, синусного апарату, лімфоїдних вузликів, кіркового плато, паракортикального шару, мозкових тяжів) та кірково-мозковий індекс. Морфометричним методом із використанням сітки № 3/16 Стефанова С.Б. підраховували щільність клітинних елементів (малих, середніх і великих лімфоцитів, плазмочитів, макрофагів) на площі 625 мкм² у структурних компонентах клубових лімфатичних вузлів.

Цифрові величини морфологічних параметрів статистично опрацьовані і представлені вибірковими середніми (М) з довірчим інтервалом (L) для рівня достовірності $p = 95 \%$ за Стьюдентом, які визначали за Стрелковим Р.Е. [9].

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що введення вагітним білим щурам-самицям репродуктивного віку антигена „Імуноглобуліну людини нормального” викликає морфологічні зміни структурних компонентів клубових лімфатичних вузлів, що є ділянковими для матки. Дані зміни як у правому, так у лівому клубових лімфатичних вузлах мають фазний характер та достовірно не відрізняються між собою. Тому порівняльні дані ми приводимо стосовно лівого лімфовузла (таблиця 1). А саме, через 7 діб після введення антигена (14 діб вагітності) достовірно

зростає відносна площа лімфоїдних вузликів (В-залежна зона) у 1,3 разу з $19,2 \pm 0,9$ до $25,2 \pm 1,2\%$. У цих морфологічних структурах відбувається антигензалежна проліферація і диференціація різних субпопуляції Т- і В-лімфоцитів [13]. Водночас достовірно зменшується відносна площа паракортикального шару (Т-залежна зона) у 1,5 разу до $6,4 \pm 0,4\%$ у порівнянні з $9,3 \pm 0,4\%$ у тварин із фізіологічним перебігом вагітності. В паракортикальному шарі здійснюється рециркуляція лімфоцитів у паренхіму лімфатичного вузла [5]. Також у даний період зменшується відносна площа кіркового плато у 1,9 разу з $17,4 \pm 0,5$ до $9,4 \pm 0,5$. Площа мозкових (В-залежна зона) тяжів через 7 діб після введення антигена достовірно зростає до $24,1 \pm 1,1\%$, а у тварин із фізіологічним перебігом вагітності в даний період цей показник становить $20,9 \pm 0,6\%$. В даному структурному компоненті „зрілими” плазмозитами (В-ефектори) синтезуються антитіла [10]. Також достовірно зростає відносна площа крайового та кіркових проміжних лімфатичних синусів у 1,2 разу до $4,5 \pm 0,2\%$ і $4,7 \pm 0,2\%$ відповідно. Зміни відносних площ інших структурних компонентів лівого клубового лімфатичного вузла після введення антигена змінюються в не достовірних межах. Кірково-мозковий індекс через 7 діб

після введення антигена зменшується до 1,34 у порівнянні з 1,55 у тварин з фізіологічним перебігом вагітності.

Через 14 діб після введення антигена (21 доба вагітності) спостерігається незначне зменшення відносної площі лімфоїдних вузликів до $23,8 \pm 1,2\%$, але цей показник достовірно більший за аналогічний період у тварин із фізіологічним перебігом вагітності, де він становить $19,1 \pm 0,9\%$. Відносна площа паракортикального шару в даний період становить $8,7 \pm 0,4\%$, що достовірно менше, ніж у тварин із фізіологічною вагітністю де цей показник становить $9,9 \pm 0,4\%$. Відносна площа кіркового плато дещо зростає, але достовірно менша, ніж у інтактних тварин, та становить $10,8 \pm 0,6\%$. Достовірно високою залишається відносна площа мозкових тяжів – $23,1 \pm 1,1\%$, у порівнянні з $20,4 \pm 0,7\%$ у тварин у даний період фізіологічної вагітності. Кірково-мозковий індекс на 14 добу після введення антигену становить 1,36, а у тварин групи порівняння в даний період вагітності – 1,59. Відносна площа інших структурних компонентів клубових лімфатичних вузлів на 14 добу після антигенної стимуляції змінюється не достовірно та знаходиться в межах показників при фізіологічному перебігу вагітності.

Таблиця 1

Динаміка змін відносних площ структурних компонентів лівих клубових лімфатичних вузлів у вагітних інтактних білих щурів-самиць репродуктивного віку при фізіологічному перебігу вагітності та вагітних особин після антигенної стимуляції організму „Імуноглобуліном людини нормальним”

Структурні компоненти лімфатичних вузлів	Відносні площі структурних компонентів клубових лімфатичних вузлів у відсотках, $M \pm m$					
	Періоди фізіологічної вагітності (тварини через 7, 14 та 21 добу після запліднення)			День введення антигена (через 7 діб після запліднення)	Періоди вагітності після введення антигена (через 7 та 14 діб після введення антигена)	
	I період (7 діб)	II період (14 діб)	III період (21 доба)		II період (14 діб)	III період (21 доба)
Капсула	$3,9 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,2$	$4,0 \pm 0,2$	↑	$3,9 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,2$
Кіркові перетинки	$3,5 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,1$	$3,5 \pm 0,1$	↑	$3,2 \pm 0,1$	$3,0 \pm 0,1$
Крайовий синус	$3,5 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,2$	$3,7 \pm 0,2$	↑	$4,5 \pm 0,2^*$	$3,5 \pm 0,2$
Кіркові лімфатичні синуси	$4,0 \pm 0,2$	$3,8 \pm 0,3$	$3,9 \pm 0,2$	↑	$4,7 \pm 0,2^*$	$3,7 \pm 0,2$
Лімфоїдні вузлики	$18,0 \pm 0,8$	$19,2 \pm 0,9$	$19,1 \pm 0,9$	↑	$25,2 \pm 1,2^*$	$23,8 \pm 1,2^*$
Кіркове плато	$17,6 \pm 0,6$	$17,4 \pm 0,5$	$17,3 \pm 0,6$	↑	$9,4 \pm 0,5^*$	$10,8 \pm 0,6^*$
Паракортикальний шар	$12,5 \pm 0,5$	$9,3 \pm 0,4$	$9,9 \pm 0,4$	↑	$6,4 \pm 0,4^*$	$8,7 \pm 0,4^*$
Мозкові перетинки	$5,1 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,2$	$5,0 \pm 0,3$	↑	$4,5 \pm 0,2$	$4,8 \pm 0,2$
Мозкові тяжі	$19,9 \pm 0,5$	$20,9 \pm 0,6$	$20,4 \pm 0,7$	↑	$24,1 \pm 1,1^*$	$23,1 \pm 1,1^*$
Мозкові лімфатичні синуси	$12,0 \pm 0,5$	$13,4 \pm 0,6$	$13,2 \pm 0,6$	↑	$14,1 \pm 0,6$	$14,5 \pm 0,6$
Кіркова речовина	$63,0 \pm 2,7$	$60,8 \pm 2,5$	$61,4 \pm 2,6$	↑	$57,3 \pm 2,8$	$57,6 \pm 2,9$
Мозкова речовина	$37,0 \pm 1,3$	$39,2 \pm 1,4$	$38,6 \pm 1,6$	↑	$42,7 \pm 1,8$	$42,4 \pm 1,8$
Кірково-мозковий індекс	1,70	1,55	1,59	↑	1,34	1,36

Примітка: * – параметр достовірно відрізняється у порівнянні з тваринами при фізіологічному перебігу вагітності; ↑ – введення „Імуноглобуліну людини нормального” через 7 діб після запліднення.

Таблиця 2

Динаміка зміни щільності лімфоїдних клітин у структурних компонентах ліхвих клубових лімфатичних вузлів вагітних інтактних білих щурів-самиць при фізіологічному перебігу вагітності та вагітних особин після антигенної стимуляції організму „Імуноглобуліном людини нормальним”

Клітинні елементи	Термін вагітності	День спостереження (доба після введення антигена)	Щільність клітинних елементів у структурних компонентах клубових лімфатичних вузлів у вагітних інтактних тварин та вагітних особин після введення антигена на площі 625 мкм ² (M±L)												
			Лімфоїдні вузлики			Світлий центр			Паракортикальний шар						
			Корона вузлика		Світлий центр	інтактні тварини		тварини після дії антигена	інтактні тварини		тварини після дії антигена	Мозкові тяжі			
Малі лімфоцити	I період	↑	17,85±1,70	↑	8,36±0,44	↑	13,21±0,73	↑	8,38±0,93	↑	8,38±0,93	↑	8,38±0,93	↑	8,38±0,93
	II період		16,85±1,60	21,65±1,82*	6,51±0,34	2,95±0,24*	14,97±0,83	18,86±1,75*	7,47±0,89	6,83±0,71	7,47±0,89	6,83±0,71	7,47±0,89	6,83±0,71	
	III період		17,13±1,63	22,14±1,86*	6,53±0,35	3,26±0,31*	14,16±0,79	17,51±1,53*	7,23±0,87	6,10±0,68	7,23±0,87	6,10±0,68	7,23±0,87	6,10±0,68	
Середні лімфоцити	I період	↑	3,22±0,31	↑	7,13±0,37	↑	2,66±0,15	↑	1,34±0,12	↑	1,34±0,12	↑	1,34±0,12	↑	1,34±0,12
	II період		3,28±0,31	3,37±0,33	8,74±0,41	13,11±1,12*	2,79±0,16	3,06±0,17	1,43±0,13	1,61±0,15	2,79±0,16	1,43±0,13	1,43±0,13	1,61±0,15	
	III період		3,35±0,32	3,72±0,41	9,31±0,47	12,10±1,10*	2,88±0,16	3,17±0,12	1,50±0,14	1,56±0,14	2,88±0,16	1,50±0,14	1,50±0,14	1,56±0,14	
Великі лімфоцити	I період	↑	0,58±0,05	↑	2,34±0,12	↑	0,45±0,02	↑	0,21±0,02	↑	0,21±0,02	↑	0,21±0,02	↑	0,21±0,02
	II період		0,49±0,04	0,57±0,05	2,21±0,12	3,47±0,32*	0,34±0,02	0,38±0,03	0,16±0,02	0,14±0,02	0,34±0,02	0,16±0,02	0,16±0,02	0,14±0,02	
	III період		0,38±0,03	0,45±0,04	1,92±0,10	2,56±0,21*	0,29±0,01	0,32±0,02	0,18±0,02	0,16±0,03	0,29±0,01	0,18±0,02	0,18±0,02	0,16±0,03	
Плазмоцити	I період	↑	0,15±0,02	↑	0,56±0,03	↑	0,18±0,02	↑	2,07±0,22	↑	2,07±0,22	↑	2,07±0,22	↑	2,07±0,22
	II період		0,17±0,03	0,31±0,03*	0,70±0,04	0,98±0,09*	0,21±0,03	0,31±0,04*	2,47±0,30	5,60±0,69*	0,21±0,03	2,47±0,30	5,60±0,69*		
	III період		0,13±0,02	0,26±0,02*	0,58±0,03	0,82±0,08*	0,19±0,02	0,27±0,03*	2,38±0,28	4,24±0,48*	0,19±0,02	2,38±0,28	4,24±0,48*		
Макрофаги	I період	↑	0,29±0,03	↑	0,55±0,04	↑	0,33±0,03	↑	0,48±0,05	↑	0,48±0,05	↑	0,48±0,05	↑	0,48±0,05
	II період		0,21±0,02	0,38±0,04*	0,48±0,03	0,61±0,05*	0,28±0,02	0,38±0,04*	0,40±0,03	0,53±0,05*	0,28±0,02	0,40±0,03	0,53±0,05*		
	III період		0,18±0,02	0,31±0,03*	0,33±0,02	0,47±0,04*	0,26±0,02	0,32±0,03	0,35±0,03	0,49±0,04*	0,26±0,02	0,35±0,03	0,49±0,04*		

Примітка: * – параметр достовірно відрізняється у порівнянні з тваринами при фізіологічному перебігу вагітності; ↑ – введення „Імуноглобуліну людини нормального” через 7 днів після запліднення.

Динаміку зміни щільності лімфоїдних клітин у структурних компонентах клубових лімфатичних вузлах показано в таблиці 2. Достовірної різниці між змінами щільності лімфоїдних клітин у структурних компонентах правого та лівого клубових вузлів не виявлено. Тому порівняння з інтактними вагітними тваринами ми проводили відносно лівого клубового вузла. Як видно із даних таблиці 2, через 7 діб після введення антигена у короні лімфоїдних вузликів достовірно зростає щільність малих лімфоцитів у 1,3 разу з $16,85 \pm 1,60$ до $21,65 \pm 1,82$. Водночас зменшується їхня кількість у світлому центрі у 2,2 рази з $6,51 \pm 0,34$ до $2,95 \pm 0,24$. При цьому у світлому центрі достовірно зростає: щільність середніх лімфоцитів у 1,5 разу з $8,74 \pm 0,41$ до $13,11 \pm 1,12$; щільність великих лімфоцитів – у 1,6 разу з $2,21 \pm 0,12$ до $3,47 \pm 0,32$; щільність плазмоцитів – у 1,4 разу з $0,70 \pm 0,04$ до $0,98 \pm 0,09$ та щільність макрофагів у 1,3 разу з $0,48 \pm 0,03$ до $0,61 \pm 0,05$. У паракортикальному шарі в даний період достовірно зростає щільність малих лімфоцитів у 1,2 разу з $14,97 \pm 0,83$ до $18,86 \pm 1,75$; плазмоцитів у 1,5 разу з $0,21 \pm 0,03$ до $0,31 \pm 0,04$; макрофагів у 1,4 разу з $0,28 \pm 0,02$ до $0,38 \pm 0,04$. У мозкових тяжках через 7 діб після введення антигена спостерігається достовірне збільшення щільності плазмоцитів у 2,3 рази з $2,47 \pm 0,30$ до $5,60 \pm 0,69$ та макрофагів у 1,3 рази з $0,40 \pm 0,03$ до $0,53 \pm 0,05$. Через 14 діб після введення антигена щільність малих лімфоцитів у короні лімфоїдних вузликів досягає максимуму та становить $22,14 \pm 1,86$, що у 1,3 разу перевищує даний показник у інтактних вагітних. Щільність плазмоцитів і макрофагів у даному структурному компоненті дещо зменшується до $0,26 \pm 0,02$ і $0,31 \pm 0,03$ відповідно. У світлому центрі через 14 діб після введення антигена поступово

зростає щільність малих лімфоцитів до $3,26 \pm 0,31$, що у 2 рази менше, ніж у інтактних тварин у даний період. Щільність середніх лімфоцитів становить $12,10 \pm 1,10$, що у 1,3 разу більше, ніж у інтактних тварин, де даний показник становить $9,31 \pm 0,47$. Великі лімфоцити у світлому центрі поступово зменшуються та становлять у даний період $2,56 \pm 0,21$, що у 1,3 разу більше за відповідний показник в інтактних вагітних тварин. Щільність плазмоцитів та макрофагів у світлому центрі через 14 діб після введення антигена дещо зменшується, але достовірно більша за показники в інтактних тварин та становить відповідно $0,82 \pm 0,08$ і $0,47 \pm 0,04$. В паракортикальному шарі через 14 діб після введення антигена спостерігається незначне зменшення щільності малих лімфоцитів до $17,51 \pm 1,53$; плазмоцитів до $0,27 \pm 0,03$ та макрофагів до $0,32 \pm 0,03$, але дані показники достовірно більші, ніж у інтактних тварин у даний період. Щільність плазмоцитів та макрофагів у мозкових тяжках через 14 діб після введення антигена дещо зменшуються до $4,24 \pm 0,48$ і $0,49 \pm 0,04$ відповідно.

Висновки. Антигенна стимуляція організму під час вагітності викликає системну реакцію структурних компонентів клубових лімфатичних вузлів, які є ділянковим для матки, що проявляється фазовими змінами їхніх відносних площ та щільності клітинного складу. Найпомітніші зміни відбуваються через 7 діб після введення антигена, коли максимально збільшується відносна площа лімфоїдних вузликів у 1,3 разу, мозкових тяжів у 1,2 разу та зменшується кіркове плато у 1,9 разу, а паракортикальний шар у 1,5 разу, а також змінюється щільність лімфоїдних клітин у даних структурних компонентах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Азнаурян А.Б. Морфофункциональная характеристика органов иммунитета при воздействии на организм инфекции, антигенной стимуляции и повышенного атмосферного давления / А.Б. Азнаурян, М.З. Бахшиян, Т.А. Белоусова [и др.] // Морфология. – 1993. – Т. 105, вып. 9–10. – С. 35–36.
2. Бибик Е.Ю. Ультраструктура брижових лімфатичних вузлів інтактних статевозрілих шурів / Е.Ю. Бибик // Український морфологічний альманах. – 2006. – Т. 4, № 4. – С. 11–14.
3. Бородин Ю.И. Лимфатический регион матки после родов на фоне перенесенного воспаления половых органов / Бородин Ю.И., Попова В.В., Дергачева Т.И. [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 1. – С. 65–68.
4. Волошин Н.А. Внутриутробное введение антигенов – модель для изучения процессов морфогенеза лимфоидных органов / Н.А. Волошин, М.В. Карзов, Е.А. Григорьева [и др.] // Таврический медико-биол. вестник. – 2002. – № 3. – С. 43–46.
5. Головацький Т.А. Закономірності змін судин гемомікроциркуляторного русла лімфатичних вузлів при антигенній стимуляції / Т.А. Головацький // Зб. наук. пр. „Актуальні питання морфології”. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 76–77.
6. Демина Т.Н. Современные взгляды на иммунологию гестационного процесса / Т.Н. Демина, Э.А. Майлян, И.Д. Гюльмамедова [и др.] // Репрод. здоровье женщины. – 2003. – № 13. – С. 43–48.
7. Сапин М.Р. Лимфатическая система и ее роль в иммунных процессах / М.Р. Сапин // Морфология. – 2007. – Т.131, № 1. – С. 18–23.
8. Стефанов С.Б. Сравнение морфометрических результатов по отношениям кумулят // Арх. анат. – 1982. – Т.82, №3. – С.91–94.
9. Стрелков Р.Е. Экспрес-метод статистической обработки экспериментальных клинических данных. – М.: Медицина, 1986. – 36 с.
10. Binz H. Immunostimulats / H. Binz, A.M. Perruchet // Jornal „Immunologie medicale”. – 1990. – Vol. 7, № 3. – P. 123–127.
11. Bona C.A. Neonatal immunity / Constantin A. Bona. – New Jersey: Humana Press, 2005. – 389 p.
12. Krinke G. The laboratory rat / Georg Krinke. – London: Academic Press, 2000. – 756 p.
13. Sakita K. Structure and function of the hemolymph node in rats / K. Sakita, M. Fujino, T. Koshikawa [et al.] // Nagoya J. Med. Sci. – 1997. – Vol.60, № 3–4. – P. 129–137.

SUMMARY

STRUCTURAL CHANGES OF ILIAC LYMPHATIC NODES OF PREGNANT WHITE RATS ARE AFTER ANTIGEN STIMULATION OF ORGANISM

Malyar Vol.V.

In an experiment on pregnant white rats-females of genesial age the changes of structural parameters of district lymphatic nodes of uterus are studied in a dynamics after introduction of antigen of „Imunoglobulinu man normal”. It is set that after antigen stimulation of organism there are phase changes of relative areas of structural components of iliac lymphatic nodes that closeness of their cellular composition. The most noticeable changes take a place in 7 days after introduction of antigen, when the relative area of lymphoid nodule is maximally increased in 1,3 times, medullar chordae in 1,2 times and a cortical plateau diminishes in 1,9 times, and paracortical zone in 1,5 times. Reliable difference between the changes of these indexes it is not discovered in the left and right iliac node.

Keywords: pregnancy, iliac lymphatic nodes, antigen stimulation