

**ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ МЕДІАСТИНАЛЬНОГО ЛІМФОВУЗЛА
В ПІСЛЯНАТАЛЬНИЙ ПЕРІОД У НОРМІ
ТА ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОПЛІДНОГО ВВЕДЕННЯ ІМУНОГЛОБУЛІНУ
ЛЮДИНИ**

Досліджено клітинний склад медіастинального лімфатичного вузла в нормі та після внутрішньо-плідного введення імуноглобуліну людини. Встановлено, що введення білкового антигену прискорює формування лімфоїдних структур паренхіми медіастинального лімфатичного вузла, збільшує щільність малих лімфоцитів в усіх структурах паренхіми лімфовузла, але спостерігають зменшення щільності середніх і великих лімфоцитів у паракортикальній зоні та мозковій речовині протягом трьох тижнів спостереження після народження.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: медіастинальний лімфатичний вузол, паренхіма вузла, лімфоцит, антиген – імуноглобулін людини.

ВСТУП. Стрімкий розвиток фундаментальної і прикладної імунології супроводжується інтенсивним впровадженням у практику охорони здоров'я методів імунокорекції. Одним з них є застосування гуморального специфічного фактора – імуноглобулінів. Препарат “Імуноглобулін людини нормальний” (“Биофарм”, Україна) містить широкий спектр антитіл до багатьох збудників інфекцій. Складові препарату після введення в організм людини пов'язують і елімінують багато компонентів, що викликають інтоксикацію, сприяють деблокуванню рецепторів, нормалізації експресії антигенів. Одночасно препарату притаманні апірогенні, атоксичні властивості. Таким чином, загалом препарату властиві суто антигенні дії. Тому, застосовуючи його в експерименті, передбачається отримати результати щодо імунної відповіді на чисто білковий антиген. Препарат також сприяє відновленню здатності фагоцитів і ефektorів природної цитотоксичності (натуральні кілери, Т-лімфоцити та ін.) [10].

Ряд авторів провів низку експериментальних досліджень на лабораторних тваринах, яким внутрішньоплідно вводили імуноглобулін людини [2, 7, 11]. Але практично не вивченим залишається питання щодо впливу антигенів білкової природи на становлення і розвиток медіастинального лімфатичного вузла. Імунна система новонароджених має свої онтогенетичні особливості: підвищене споживання імуноглобулінів у ранній період адаптації при колонізації шкіри і

© О. Г. Куш, Н. Г. Васильчук, 2014.

слизових оболонок мікрофлорою навколишнього середовища, а також відсутність клітин імунологічної пам'яті. Деякі автори свідчать, що метаболізм препарату йде двома основними шляхами: більша частина імуноглобулінів поглинається тканинними макрофагами або фагоцитами селезінки та підлягає внутрішньоклітинному протеолізу в лізосомах; вільні імуноглобуліни і частина циркулюючих комплексів потрапляють до нирок, де розщеплюються відповідними протеазами [3, 6].

Науковий інтерес становить вивчення морфологічних особливостей медіастинального лімфатичного вузла як за умов норми, так і при антенатальному введенні імуноглобуліну людини щурам [12, 13].

Метою дослідження було вивчити в порівняльному аспекті динаміку змін щільності малих, середніх, великих лімфоцитів та макрофагів у структурних компонентах паренхіми медіастинального лімфатичного вузла щурів з 1-ї доби після народження до 60-ї як у нормі, так і після внутрішньоплідного введення імуноглобуліну людини.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експерименті використовували 2 групи білих щурів: 1-ша – контрольна, тваринам якої вводили фізіологічний розчин (n=30); 2-га – експериментальні тварини, яким вводили імуноглобулін людини (n=30), препарати вводили внутрішньоплідно на 18-ту добу внутрішньоутробного розвитку. Антиген і фізіологічний розчин вводили плодам

лапаротомічно, шляхом кризьматкової ін'єкції, фізіологічний розчин об'ємом 0,05 мл та антиген у кількості 0,165 мг білка в 0,05 мл кожному плоду – за способом, розробленим М. А. Волошиним зі співавторами [1]. Всі експериментальні процедури проводили відповідно до Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях [4]. Кількість клітин підраховували за допомогою модифікованої сітки Глаголева в перерахунку на умовну одиницю площі – 1000 мкм² [8].

Гістологічні зрізи медіастинального лімфатичного вузла товщиною 5–6 мкм фарбували гематоксиліном і еозином та ставили ШИК-реакцію. Клітинний склад структур медіастинальних лімфатичних вузлів вивчали при збільшенні $\times 90$ (абсолютна кількість малих, середніх та великих лімфоцитів, а також абсолютна кількість макрофагів у різних зонах лімфовузла). Всі результати дослідження обробляли методами варіаційної статистики за Фішером–Стьюдентом. Для кожної досліджуваної величини визначали показники середнього арифметичного (M) і стандартної помилки репрезентативності середнього арифметичного (m). При перевірці статистичних гіпотез нульову гіпотезу відкидали при рівні значущості $p < 0,05$ [9].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З 1-ї до 11-ї доби вузол має майже круглу форму. У тварин старшого віку він набуває будови класичного лімфовузла – бобоподібної форми, при цьому лімфовузол подовжується вздовж поверхні основи серця. Розміри медіастинального лімфатичного вузла зростають з віком. Збільшуються як поперекові, так і повздовжні розміри вузла. У новонароджених тварин його повздовжні розміри становлять 0,41 мм. На 60-ту добу вони зростають до 1,48 мм. У тварин після внутрішньоплідного введення антигену спостерігають збільшення розмірів лімфовузла протягом усіх строків спостереження. На 1-шу добу життя його розміри становлять 0,48 мм, з часом, через два місяці, – 2,45 мм, що було встановлено раніше [5].

На гістологічних препаратах медіастинального лімфатичного вузла щурів кіркова речовина займає велику площу зрізу та має неоднорідну будову. Більш-менш чітка межа між кірковою та мозковою речовинами досліджуваних лімфатичних вузлів проявляється у двотижневих тварин. Приблизно у цей же час можна вже диференціювати лімфоїдні вузлики від інших зон паренхіми медіастинального лімфатичного вузла в антигенпремійованих тварин. Необхідно зазначити, що в паренхімі

лімфовузлів щурів, які зазнали антенатальної стимуляції імуноглобуліном людини, формування вищезазначених структур прискорилось на тиждень. На зрізах вузла, проведених через його ворота, вже можна розрізнити периферичну щільну кіркову речовину, що складається з лімфатичних вузликів, паракортикальну (дифузну) зону, а також світлу мозкову речовину, утворену мозковими тяжами та синусами.

Проведені морфологічні дослідження показали, що внутрішньоплідне введення антигену викликає у новонароджених тварин достовірне збільшення кількості малих лімфоцитів у кірковій та мозковій речовинах ($14,80 \pm 0,66$ і $3,00 \pm 0,25$) порівняно з контрольною групою щурів ($11,00 \pm 0,57$ та $1,90 \pm 0,23$ відповідно), хоча слід зазначити, що поділ паренхіми лімфовузла в цей період досить умовний. Антигенна стимуляція сприяла також більш ранній появі активованих макрофагів у різних зонах паренхіми середостінного лімфовузла. Достовірних змін щільності середніх лімфоцитів у жодній зоні лімфовузла не виявлено, проте спостерігали достовірне зниження (на 60 %) числа великих лімфоцитів у В-залежній зоні медіастинального лімфатичного вузла (табл.).

У 3-добових щурів продовжує збільшуватися щільність малих лімфоцитів на одиницю площі в усіх зонах досліджуваних лімфовузлів (табл.), проте інтенсивність зростання кількості клітин у 2-й групі достовірно (в середньому на 40 %) перевищує показники 1-ї групи. Достовірно зменшується чисельність середніх та великих лімфоцитів порівняно з контролем.

У тижневих тварин переважають малі лімфоцити в кірковому плато щурів обох груп, достовірно відносно групи контролю. Їх кількість збільшується в кірковій та мозковій зонах медіастинального лімфовузла (відповідно, на 57 і 69 %). Починає визначатися паракортикальна зона вузлів експериментальних тварин, яка переважно заселена малими лімфоцитами. Помітно збільшується кількість макрофагів у кірковій та мозковій зонах лімфовузла. У кірковому шарі експериментальних тварин в 43 % випадків виявлено лімфоїдні вузлики без гермінативних центрів. Достовірно зростає щільність середніх лімфоцитів у всіх структурних відділах середостінного лімфовузла, особливо в паракортикальній зоні та мозковій речовині (на 55 і 76 % відповідно). Плазматичні клітини поодинокі в кірковій речовині. Візуально їх чисельність починає збільшуватися в паракортикальній зоні та м'якітних тяжах, проте в антигенпремійованих щурів вона все ж таки залишається достовірно нижчою, ніж у контролі.

Таблиця – Динаміка клітинного складу медіастинального лімфатичного вузла щурів з 1-го до 60-го дня після народження як за умов норми, так і після внутрішньоплідної антигенної стимуляції

Доба	Група	Кількість лімфоцитів (M±L) на ум. од. площі 1000 мкм ²			
		малих	середніх	великих	макрофагів
1	2	3	4	5	6
Кіркова зона					
1	1-ша	11,00±0,57	0,50±0,16	0,20±0,13	1,00±0,21
3		12,00±0,57	1,50±0,16	0,50±0,16	2,40±0,26
7		12,90±0,62	2,00±0,25	0,80±0,13	2,10±0,23
11		16,10±0,52	1,80±0,24	0,60±0,16	2,90±0,27
14		15,60±0,65	2,30±0,15	1,10±0,10	2,40±0,26
21		17,00±0,47	3,00±0,25	0,70±0,15	2,00±0,25
30		15,10±0,43	3,20±0,20	0,90±0,10	1,90±0,23
45		15,90±0,64	4,00±0,33	1,20±0,13	3,00±0,25
60		17,80±0,48	3,10±0,23	1,10±0,10	3,00±0,33
1	2-га	14,80±0,66*	–	0,10±0,10	1,20±0,20
3		16,90±0,87*	0,80±0,13	0,30±0,15	2,50±0,22
7		20,30±0,96*	1,70±0,26	0,20±0,13*	2,90±0,27*
11		30,50±0,95*	5,80±0,32*	0,30±0,15*	3,90±0,27*
14		34,40±0,87*	6,00±0,39*	0,70±0,15*	3,10±0,23
21		26,20±1,16*	5,00±0,39	1,00±0,21	4,90±0,45*
30		18,80±0,94	4,10±0,43*	1,60±0,22*	4,90±0,34*
45		15,70±0,88	3,80±0,91	1,80±0,20	3,70±0,30
60		12,20±0,79*	4,20±0,66	2,30±0,30*	6,00±0,33*
Паракортикальна зона					
1	1-ша	9,10±0,52	0,50±0,16	–	–
3		11,20±0,67	0,30±0,15	0,50±0,16	2,10±0,23
7		14,40±0,45	1,10±0,17	0,70±0,15	3,00±0,25
11		12,50±0,50	1,00±0,21	1,40±0,16	2,00±0,21
14		15,70±0,47	0,70±0,15	1,70±0,30	2,90±0,23
21		15,00±0,57	1,30±0,15	2,10±0,09	2,00±0,21
30		14,10±0,45	0,90±0,10	1,90±0,23	3,00±0,25
45		16,00±0,47	1,60±0,22	2,30±0,21	2,10±0,23
60		15,00±0,42	2,40±0,16	1,50±0,16	2,00±0,25
1	2-га	9,70±0,55	–	–	0,70±0,15*
3		15,90±0,70*	0,40±0,16	0,40±0,16	1,60±0,16
7		17,80±0,79	1,70±0,21	0,70±0,15	3,30±0,30
11		24,0±0,81*	3,50±0,26*	0,90±0,10	2,80±0,29
14		21,10±0,84*	2,80±0,24*	1,60±0,22	3,50±0,26
21		18,10±0,78	3,80±0,24*	2,60±0,22	3,10±0,23*
30		14,70±0,82	2,10±0,31*	1,20±0,29	4,10±0,37*
45		15,40±1,04	1,70±0,26	1,90±0,27	3,60±0,22*
60		12,90±0,64	1,30±0,30*	1,50±0,26	2,80±0,24
Мозкова речовина					
1	1-ша	1,90±0,23	1,10±0,17	0,50±0,16	–
3		4,10±0,27	2,00±0,25	2,80±0,20	0,30±0,15
7		4,80±0,32	2,10±0,27	3,90±0,37	0,70±0,15
11		6,80±0,38	4,00±0,25	2,90±0,27	0,90±0,10
14		5,80±0,32	3,00±0,25	4,90±0,37	0,90±0,17
21		3,80±0,32	1,90±0,23	3,00±0,25	0,70±0,15
30		4,90±0,31	4,00±0,25	3,60±0,37	1,10±0,17
45		5,90±0,37	2,10±0,23	4,10±0,34	1,10±0,17
60		4,70±0,13	2,80±0,20	4,50±0,37	1,60±0,16
1	2-га	3,00±0,25*	0,70±0,15	0,20±0,13*	1,00±0,14*
3		5,70±0,42*	1,50±0,22	0,80±0,20*	1,10±0,23*
7		8,10±0,52*	3,70±0,26*	2,10±0,23*	1,50±0,26*
11		11,50±0,58*	2,90±0,23*	2,20±0,20	2,10±0,23*
14		9,70±0,55*	5,00±0,25*	5,80±0,32	1,00±0,21
21		10,70±0,65*	6,70±0,42*	4,70±0,42*	1,80±0,24*

1	2	3	4	5	6
30		8,00±0,49*	4,00±0,33	8,10±0,52*	2,00±0,25*
45		6,80±0,78	5,60±0,37*	6,00±0,39*	1,00±0,21
60		7,00±0,64	5,10±0,50*	6,90±0,37*	2,00±0,25

Примітки:

1. * – відмінність достовірна порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$).
2. 1-ша – контрольна група.
3. 2-га – група антенатально імунізована γ -глобуліном.

На 11-ту добу спостерігають значне підвищення відносної кількості малих лімфоцитів (табл.). Так, щільність малих лімфоцитів у кірковій, паракортикальній зонах та мозковій речовині середостінних лімфовузлів піддослідних щурів на 89, 92 і 58 % відповідно перевищує аналогічні значення контрольної групи. Триває збільшення клітин, що діляться мітотично. Спостерігають зростання чисельності макрофагів у всіх зонах лімфатичних вузлів як контрольних, так і піддослідних тварин. Достовірно і суттєво збільшується число середніх лімфоцитів у кірковій та паракортикальній зонах середостінних лімфовузлів піддослідних щурів (на 222 та 250 % відповідно). Плазматичні та клітини з ознаками руйнування одиничні в кірковій зоні, але плазмацити стабільно переважають у мозкових тяжках, де їх кількість візуально відповідає показникам, характерним для дефінітивних середостінних лімфовузлів.

На 14-ту добу після народження лімфоїдні вузлики виявляють в 100 % випадків у всіх досліджуваних групах тварин, причому в піддослідних щурів (2-га група) переважають вузлики, що мають добре розвинені гермінативні центри. Щільність малих лімфоцитів у антигенпремійованих щурів продовжує збільшуватись у кірковій зоні (перевищуючи аналогічне значення 1-ї групи на 120 %), в паракортикальній зоні зростання щільності клітин дещо призупиняється (перевищуючи контрольну групу всього на 34 %), у мозковій речовині різниця між групами за показником щільності малих лімфоцитів залишається практично без змін (67 %) порівняно з попереднім терміном спостереження. Достовірно збільшується щільність середніх лімфоцитів у всіх зонах паренхіми лімфовузла піддослідних щурів порівняно з групою контролю. Достовірно різниці за кількістю великих лімфоцитів та макрофагів на одиницю площі між вищезазначеними групами не виявлено.

Наприкінці третього тижня життя щурів згладжується різниця у показниках клітинного

складу в піддослідних та контрольних тварин за щільністю малих лімфоцитів у різних зонах лімфовузла, проте починає достовірно збільшуватись кількість середніх і малих лімфоцитів на одиницю площі. Вузли антигенстимульованих щурів набувають остаточно дефінітивної будови. Дещо візуально зростають показники моноцитів та плазматичних клітин у кірковій зоні медіастинального лімфатичного вузла. Схожа тенденція простежується і на 30-ту добу після натального розвитку щурів.

На 45-ту і 60-ту доби продовжує зменшуватись щільність малих лімфоцитів у всіх зонах паренхіми середостінного лімфовузла щурів дослідної групи, проте зростає кількість середніх та великих лімфоцитів у мозковій речовині, перевищуючи аналогічні показники контрольних щурів (на 167 і 46 % відповідно). Практично до 60-ї доби нівелюється різниця за показниками щільності клітин між різними зонами паренхіми лімфовузла (табл.).

ВИСНОВКИ. 1. Внутрішньоплідне введення імуноглобуліну людини у пренатальний період онтогенезу сприяє прискореному формуванню лімфоїдних структур паренхіми середостінного лімфатичного вузла в ранній постнатальний період онтогенезу щурів: зростають розміри лімфатичного вузла, на сім діб раніше спостерігають формування лімфоїдних вузликів та паракортикальної зони.

2. Протягом перших трьох тижнів постнатального розвитку тварин після внутрішньоплідного введення імуноглобуліну людини відмічають збільшення щільності малих лімфоцитів у всіх структурах паренхіми лімфовузла та зменшення щільності середніх і великих лімфоцитів у паракортикальній зоні та мозковій речовині.

3. Із 60-ї доби після народження в антигенпремійованих щурів різниця в показниках щільності лімфоцитів у структурах нівелюється порівняно з тваринами контрольної групи.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Внутриутробное введение антигенов – модель для изучения процессов морфогенеза лимфоидных органов / Н. А. Волошин, М. В. Карзов, Е. А. Григорьева [и др.] // Тавр. мед.-биол. вестн. – 2002. – № 3. – С. 43–46.
2. Волошин Н. А. Особенности становления лимфоидной ткани, ассоциированной с кожей, в норме и после внутриутробного введения антигенов / Н. А. Волошин, О. Г. Куц // Вісник морфології. – 1999. – 5, № 2. – С. 118–120.
3. Вопросы практической педиатрии / А. Г. Антонов, Н. Н. Ашиткова, Т. В. Бирюкова [и др.]. – 2007. – 2, № 2. – С. 56–64.
4. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експер. та клін. фізіол. біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.
5. Куц О. Г. Особливості топографії і будови медіастинального лімфатичного вузла у щурів в ранньому післянатальному періоді в нормі та після внутрішноплідної дії антигену / О. Г. Куц, Н. Г. Васильчук // Морфологія на сучасному етапі розвитку науки. – Тернопіль, 2012. – С. 114–116.
6. Лазарева Д. Н. Стимуляторы иммунитета / Д. Н. Лазарева, Е. К. Алехин. – М. : Медицина, 1985. – 256 с.
7. Матвейшина Т. М. Влияние внутриутробного антигенного навантаження на темпи збільшен-
ня висоти епітелію носової частини глотки щурів / Т. М. Матвейшина // Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини. – Одеса, 2012. – С. 33.
8. Методика оценки клеточного состава лимфатических узлов / М. Р. Сапин, В. Ш. Белкин, С. Б. Стефанов, М. Ю. Куинова // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1988. – 105, № 8. – С. 85–89.
9. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных / О. Ю. Реброва. – М. : Издательство Медиа Сфера, 2006. – 305 с.
10. Самсыгина Г. А. Иммуноглобулины для внутривенного введения в педиатрии / Г. А. Самсыгина // Лечащий врач. – 2002. – № 9. – С. 14–18.
11. Светлицкий А. А. Морфологические изменения стенки тонкой кишки крыс в постнатальном периоде, после внутриутробного введения антигена / А. А. Светлицкий // Запорож. мед. журн. – 2006. – 1, № 5 (38). – С. 10.
12. Lymphatic system: morphofunctional considerations / G. Saiiustio, C. Giangreogorij, L. Cannas [et al.] // Rays. – 2000. – 25, № 4. – P 413–427.
13. Roncarolo M. Regulatory T-cell immunotherapy for tolerance to self antigens and alloantigens in humans / M. Roncarolo, M. Battaglia // Nat. Rev. Immunol. – 2007. – P. 585–598.

О. Г. Куц, Н. Г. Васильчук

ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ МЕДИАСТИНАЛЬНОГО ЛИМФОУЗЛА В ПОСЛЕНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД В НОРМЕ И ПОСЛЕ ВНУТРИПЛОДНОГО ВВЕДЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА

Резюме

Исследовано клеточный состав медиастинального лимфатического узла в норме и после внутриплодного введения иммуноглобулина человека. Установлено, что введение белкового антигена ускоряет формирование лимфоидных структур паренхимы медиастинального лимфатического узла, увеличивает плотность малых лимфоцитов во всех структурах паренхимы лимфоузла, но наблюдается уменьшение плотности средних и больших лимфоцитов в паракортикальной зоне и мозговом веществе на протяжении трех недель наблюдения после рождения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: медиастинальный лимфатический узел, паренхима узла, лимфоцит, антиген – иммуноглобулин человека.

PECULIARITIES OF FORMATION OF MEDIASTINAL LYMPH NODE IN POSTNATAL PERIOD IN NORM AND AFTER THE ANTENATAL INTRODUCTION OF HUMAN IMMUNOGLOBULIN

Summary

Investigated the cellular composition of the mediastinal lymph node in norm and after the antenatal introduction of human immunoglobulin. It is found that the introduction of proteantigen accelerates the lymphoid structures of parenchyma of mediastinal lymph node, increases the density of small lymphocytes in all structures of the parenchyma of the lymph node, but a decrease in the density of the medium and large lymphocytes in the paracortical zone and the medulla for three weeks after birth.

KEY WORDS: mediastinal lymph node, the parenchyma of the node, the lymphocyte, antigen – human immunoglobulin.

Отримано 18.07.14

Адреса для листування: Н. Г. Васильчук, вул. Маяковського, 20, кв. 133, Запоріжжя, Україна, e-mail: Vasilchuknata@mail.ru.