

ЛЕКТИНРЕЦЕПТОРНИЙ АПАРАТ ІНТЕРДИГИТУЮЧИХ КЛІТИН ПАРАКОРТИКАЛЬНОЇ ЗОНИ ЛІМФАТИЧНОГО ВУЗЛА

©О. Г. Куш

Запорізький державний медичний університет

РЕЗЮМЕ. Емпіричним шляхом підбрано лектин, що специфічно виявляє інтердигитуючі клітини паракортикальної зони. Ним виявився лектин виноградного слимака (НРА), що є лігандом до залишків α NAcDGal. В Т-зоні шириною 10–15 мкм локалізуються НРА⁺-клітини у вигляді ланцюжка, ніби маркуючи паракортикальну зону. НРА⁺-дендритні клітини мають розміри соми до 5–7 мкм, від якої виходять 4–7 відростків, що мають звивистий характер. Наявність відростків є морфологічним проявом тісної взаємодії НРА⁺-клітин з клітинами їх мікрооточення. За морфологією антигенпрезентуючі клітини зірчастої форми і нібито їх міцно затиснено між 9–12 клітинами. Максимальна кількість НРА⁺-інтердигитуючих клітин трахеобронхіального лімфатичного вузла щурів спостерігається на 7 добу після народження.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: лімфатичний вузол, інтердигитуючі клітини, лектин виноградного слимака

Вступ. Для паракортикальної зони характерні особливі, строго специфічні клітини строми – інтердигитуючі клітини, які вперше були описані на даній території лімфатичних вузлів у кроля J. T. Veldman (1970), K. Lennert і Н. К. Myller-Hermeling – у людини (1975) і А. Frieb (1976) – у щурів [1, 2, 3]. Ці клітини у людини і тварин мають ряд загальних морфологічних ознак. Найбільш характерні ультраструктурні особливості: 1) наявність на їх поверхні довгих пальцеподібних цитоплазматичних відростків, що заходять між відростками сусідніх клітин; 2) цитоплазма низької електронної щільності з розвинутим ендоплазматичним ретикулом; 3) ядро неправильної форми з глибокими інвагінаціями [9].

Питання про функції інтердигитуючих клітин паракортикальної зони лімфатичного вузла на сьогодні продовжує вирішуватися. Експерименти А. Frieb з уведенням щурам через черевну аорту рутенієвого червоного та пероксидази хрому показали, що дані клітини, на відміну від моноцитів, не здатні до фагоцитозу. Е. Kaiserling, К. Lennert (1974) висловили припущення, що інтердигитуючі клітини можуть фіксувати на своїй поверхні антиген і брати участь в реакціях клітинного імунітету [4]. За думкою А. Frieb, J. E. Veldman, глікопротеїди, що синтезуються даними клітинами, діють як гуморальний фактор для стимуляції лімфоцитів, що їх оточують, сприяючи їх рециркуляції. Пальцеподібні відростки, що тісно контактують з лімфоцитами, є морфологічним проявом тісної взаємодії цих двох типів клітин.

Таким чином можна вважати, що функція інтердигитуючих клітин паракортикальної зони лімфатичного вузла – створення мікросередовища, що підтримує диференціацію і проліферацію лімфоцитів.

Космачева С. М. зі співавторами (2006) показали, що *in vitro* під дією α -ІФН в комплексі з ГМ-КСФ з наступною стимуляцією бактеріальними

ліпополісахаридами відбувається формування дендритних клітин з моноцитів крові людини, що підтверджується морфологічно, генотипічно за зростанням експресії CD83 рецепторів, посиленням проліферації змішаної культури алогенних лімфоцитів [5].

За більш сучасними даними – Cheong С. та інших (2010), в експерименті були описані дендритні клітини паракортикальної зони за походженням з моноцитів крові. Автори назвали їх «танцюючими клітинами–зірками», тому що побачили їх як клітини з відростками, якими вони обіймали Т-лімфоцити [6].

Згідно з ензимогістохімічною класифікацією, за даними К. Lennert і Н. К. Muller-Hermeling (1974) інтердигитуючі клітини виявляють активність аденозинтрифосфатази, що притаманно всім антигенпрезентуючим клітинам.

Таким чином, синонімами інтердигитуючих клітин паракортикальної зони є макрофаг з відростками, моноцитарні дендритні клітини.

Повне диференціювання моноцитарних дендритних клітин в типові дендритні клітини та їх локалізація в Т-залежній зоні відбувається через L-лектин і CCR7. Вірогідно, не останню роль в даному процесі відіграють рецептори до лектинів на поверхні цитоплазматичної мембрани антигенпрезентуючих клітин, але до сьогодні недостатньо вивченим є питання лектинового рецепторного апарату даних клітин. Не достатньо досліджено, яку роль відіграють ті чи інші вуглеводовмісні рецептори дендритних клітин паракортикальної зони лімфатичного вузла в процесах розпізнавання антигенів, контактах з Т-лімфоцитами, регуляції адгезії до ендотелію високопризматичних венул, контролю їх руху по сітці фібробластичних ретикулярних клітин.

Мета дослідження. Вивчити рецепторний апарат інтердигитуючих клітин паракортикальної

зони трахеобронхіального вузла лектингістохімічним методом.

Матеріал і методи дослідження. Об'єктом дослідження стали бронхолегеневі лімфатичні вузли білих щурів на 1, 7, 14, 21, 30 доби після народження. Забір біологічного матеріалу здійснювали у декапітованих тварин згідно з законодавчими правилами «Європейської конвенції з захисту тварин, які використовуються в експериментах та науці». Для виготовлення гістологічних препаратів орган фіксували в рідині Буена, витіснили воду з батареї спиртів, заливали у суміш віск, каучук, парафін. Виготовляли гістологічні зрізи. Проводили лектингістохімічну реакцію з використанням набору «Лектинтест» (м. Львів) із застосуванням панелі лектинів. Ядра клітин дофарбовували метиленовим зеленим. Підраховували кількість тіл клітин на умовну одиницю площі – 10000 мкм², застосовуючи морфометричну сітку С. Б. Стефанова. Результати підрахунків обробляли статистичним методом.

Результати й обговорення. Емпіричним шляхом підібрано лектин, що специфічно виявляє антигенпрезентуючі клітини паракортикальної зони. Ним виявився лектин виноградного слимака (HPA), що є лігандом до залишків α NAcDGal. Цікавим є факт, що фолікулярні дендритні клітини В-зони лімфатичних вузлів виявлялися лектином арахісу, який розпізнає D-галактозу [12]. Клітини Лангерганса в шкірі також виявляються лектином арахісу [13]. В інших органах, наприклад в плаценті, антигенпрезентуючі клітини виявляються лектином конконоваліном А, що розпізнає маннозні залишки [14]. У чому, в такому випадку, полягає неоднозначність виявлення антигенпрезентуючих клітин лектинами: в їх походженні, морфофункціональному стані?

Досліджуючи структуру лімфатичного вузла на гістологічних препаратах після постановки лектингістохімічного методу з використанням лектину виноградного слимака встановлено, що клітини коркової і мозкової зон не несуть хромогенної мітки, тому мають однотипний світлий відтінок. Розрізняються дані зони за наявністю синусів в мозковій частині лімфатичного вузла. Паракортикальна зона знаходиться на межі з мозковою зоною. Вздовж цієї межі, розташованої трохи нижче середньої лінії лімфатичного вузла, в зоні шириною 10–15 мкм локалізуються HPA⁺-клітини у вигляді ланцюжка. Саме HPA⁺-клітини ніби маркують паракортикальну зону. HPA⁺-дендритні клітини мають розміри соми до 5–7 мкм, від якої виходять 4–7 відростків, що мають звивистий характер. Наявність відростків є морфологічним проявом тісної взаємодії HPA⁺-клітин з клітинами їх мікрооточення. За морфологією антигенпрезентуючі клітини – зірчастої форми і нібито їх міцно затиснено між 9–12 клітинами. Подібну морфологію і топографію макрофагів в цій

зоні мезентеріального лімфатичного вузла описав М.З. Бахшинян (1989) [7]. За його даними, в лімфатичному вузлі на 3–7 дні експерименту, після імунізації тварин еритроцитами барана, макрофаги зустрічаються в синусах, в паракортикальній зоні і завжди знаходяться в тісному контакті з лімфоцитами. Найчастіше вони трикутної форми з витягнутими звивистими відростками. Кількість їх в експерименті була більшою (0,0114±0,0010 од./0,4 см²), ніж в контролі (0,047±0,010), що вказує на активацію імунної відповіді. За оригінальними дослідженнями, кількість HPA⁺-клітин в нормі становить (3,89±0,33) на умовну одиницю площі.

Нашарування часточок бензидину відбувалося по поверхні цитоплазматичної мембрани досліджуваних клітин, тому, залежно, від інтенсивності нашарувань, клітини мають світло-коричневий або темно-коричневий колір. Цитоплазма також коричневого кольору. Ядро – світло-зеленого відтінку, неправильної форми. Клітини розташовувалися одна від іншої на відстані до 10–15 мкм. Встановлюється враження, що клітини контактують одна з одною в цьому візуальному ланцюжку за допомогою відростків.

Глікокалікс виявлених HPA⁺-антигенпрезентуючих клітин утримує в собі кінцеві залишки N-ацетил-D-галактози (DGalNAc), що може бути основою молекулярного механізму розпізнавання чужорідних макромолекул, як циркулюючих ізольовано в складі тканинної рідини, так і пов'язаних з поверхнею лімфоцитів. Таким чином, концентруючись у великій кількості на поверхні цитоплазматичної мембрани моноцитарних антигенпрезентуючих клітин, α NAcDGal-залишки беруть участь у зв'язуванні і розщепленні ядерної ДНК, опсонізації бактерій і мертвих клітин. Тому можна вважати, що дендритним клітинам паракортикальної зони більш властива антигенпрезентуюча, ніж фагоцитуюча функція [8]. Також відомо, що лектин виноградного слимака зв'язується O-зв'язком з α -GalNAc, а також розпізнає галактозу (β 1-3) Gal і α -GlcNAc, тобто моноцитарні антигенпрезентуючі клітини, як і класичні антигенпрезентуючі клітини, здатні презентувати два типи білків – глікозилізовані і неглікозилізовані, представляти інформацію CD8⁺-CD4⁺-лімфоцитам у відповідь на антигенну ліпополісахаридну стимуляцію [10].

Особливістю антигенпрезентуючих клітин є те, що їх цитоплазматична мембрана багата глікокон'югантами, які утримують різноманітні термінальні нередуковані вуглеводні залишки, що тісно пов'язано з функцією протеосом, і, які є рецепторами до лектину арахісу, сої, виноградного слимака, конконоваліну А. Протеосоми – мультикаталітичні високомолекулярні ендпротеази, які відіграють провідну роль у процесингу антигенів. Засіб процесування детермінується спектром протеаз і тим

самим специфічним типом рецептора, активація якого ініціює синтез протеаз для презентації розпізнаного імунотена.

З отриманих даних видно, що при процесуванні вуглеводів в цитоплазматичній мембрані інтердигитуючих клітин, на відміну від фолікулярних дендритних клітин, відбувається додаткове сіалювання вуглеводних рецепторів. Відомо, що сіалювання рецепторів пов'язане із зростанням міграційних характеристик клітин [15]. Вірогідно, в ході еволюції виникла функціональна спеціалізація рецепторів, що виявляються різними лектинами, заснована на різній інтенсивності міжмолекулярних взаємодій кінцевих вуглеводних залишків між різними типами клітин, що, не виключено, залежить від природи антигену і що визначає тип імунної відповіді.

За даними Cheong Ch. із співавт. (2010) в паракортикальній зоні лімфатичних вузлів були виявлені моноцитарні антигенпрезентуючі клітини, що емігрували інтравенозно у відповідь на мікробну стимуляцію, але мали рецептори до маннози. За власними дослідженнями маннозопозитивних дендритних клітин не було виявлено на дендритних клітинах в паракортикальній зоні. Вірогідно, розбіжності в експериментальних даних пов'язані з тим, що закордонні автори проводили дослідження на культурі клітин [11].

Протягом строків спостереження відмічаються динамічні зміни в морфофункціональному стані

HPA⁺-антигенпрезентуючих клітин. Періодично змінюється інтенсивність накопичення рецепторів до лектину слимака на HPA⁺-клітинах, що може вказувати на зміни у функціях інтердигитуючих клітин, а саме у механізмах взаємодії їх з лімфоцитами, в рециркуляції лімфоцитів; інтенсивності їх тропності до високого ендотелію посткапілярних венул. Тому особливий інтерес представляє зіставлення авідності різних лектинів до клітинних глікон'югантів інтердигитуючих клітин паракортикальної зони лімфатичного вузла.

Максимальна інтенсивність накопичення рецепторів до лектину слимака спостерігалася на HPA⁺-клітинах тварин тижневого віку після народження, що вказує на активацію імунної відповіді в Т-залежній зоні лімфатичного вузла в цей строк.

Висновки. 1. Лектингістохімічним маркером інтердигитуючих клітин паракортикальної зони лімфатичного вузла є лектин виноградного слимака.

2. Максимальна кількість HPA⁺-інтердигитуючих клітин трахеобронхіального лімфатичного вузла щурів спостерігається на 7-у добу після народження.

Перспективи подальших досліджень. Перевірити розподіл інтердигитуючих клітин паракортикальної зони за допомогою лектину виноградного слимака на інших лімфатичних вузлах в нормі і після антигенного навантаження на організм.

ЛІТЕРАТУРА

1. Veldman J. E. Histophylogy of electron microscopy of immune response / J. E. Veldman // N. Y. Boekdrukkerij Dijkstra Niemeyer, Groningen. – 1970. – 234 p.

2. Lennert K. Lymphocyten und ihre Funktionsformen Morphologie, organization und immunologic / K. Lennert, H. K. Muller-Hermelink // Bedeutung. Verhandl d. Anat. Ges., Jena. – 1975. – № 138. – S. 19–62.

3. Frieb A. Interdigitating reticulum cells in the popliteal lymph node of the rat // A. Frieb / Cell. Tiss. – 1976. – Vol. 170. – P. 43–60.

4. Kaiserling E. Die interdigitierende Reticulum-Zelle im menschlichen Lymphknoten Eine spezifische Zelle der thymusabhängigen Region // E. Kaiserling, K. Lennert / Virchow's Arch. Cell. Path. – 1974. – Bd. 16. – S. 51–61.

5. Характеристика дендритных клеток, генерированных из моноцитов периферической крови человека под действием ИФН- α / С. М. Космачева, С. В. Суренский, М. В. Белевцев, М. П. Потопнев // Иммунопатология, аллергия, инфектология. – 2006. – № 3. – С. 6–12.

6. New class of «dancing» dendritic cells derived from blood monocytes / C. Cheong, I. Matos, J.-H. Choi [et al.] // Cell. – 2010. – № 14. – P. 416–429.

7. Бахшиян М. З. Макрофагальное звено иммунного ответа в условиях антигенной стимуляции / М. З. Бахшиян // Морфофункциональная характеристика органов иммунитета. – Ереван, 1989. – 104 с.

8. Волошин М. А. Динаміка HPA⁺-цитотоксичних лімфоцитів у матково-плацентарному інтерфейсі протягом третього місяця вагітності // М. А. Волошин, О. Г. Куц // Проблеми, досягнення і перспективи розвитку медико-біологічних наук і практичного здоров'я : тр. Кримського гос. мед. ун-та ім. С. І. Георгієвського. – 2006. – Т. 142, Ч. 1. – С. 10–13.

9. Павлова И. Г. Современные данные о строении и функции паракортикальной зоны лимфатического узла / И. Г. Павлова // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии – 1978. – №12, Т. LXXV. – С. 85–92.

10. Полевщиков А. В. Лектины в защитных реакциях хордовых животных / А. В. Полевщиков // Иммунология. – 1996. – № 1. – С. 48–56.

11. Microbial Stimulation Fully Differentiates Monocytoid DC-SIGN/CD209⁺ Dendritic Cells for Immune T Cell Areas / C. Cheong, I. Matos, J.-H. Choi [et al.] // Physiology and Immunology and Chris Browne Center for Immunology and Immune Diseases Cell. – 2010. – Vol. 143. – P. 416–429.

12. Куц О. Г. Морфофункціональна характеристика PNA⁺-антигенпрезентуючих клітин медіастинального лімфатичного вузла щурів в ранньому післянатальному періоді в нормі та після внутрішньоплідної дії антигену / О. Г. Куц, Н. Г. Васильчук // Український медичний альманах – 2012. – Т. 15, № 5 (додаток) – С. 164–167.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

13. Волошин М. А. Динаміка клітин Лангерганса протягом раннього післянатального періоду в нормі та після внутрішньоплідного введення антигенів / М. А. Волошин, О. Г. Куц / *Мат. наук. - практ. конф. «Актуальні проблеми функціональної морфології та інтегративної антропології»*, Вінниця 20–21 травня 2009 р. – Вінниця : друкарня ВНМУ, 2009. – С.174–177.

14. Волошин М. А. Розподіл дендритних клітин та лімфоцитів децидуальної тканини матки в третьому періоді вагітності людини // М. А. Волошин, О. Г. Куц / *Науковий вісник Ужгородського ун-ту, серія «Медицина»*. – 2008. – Вип. 33. – С. 18–21.

15. Луцик А. Д. Лектины в гистохимии // Д. А. Луцик, Е. С. Детюк, М. Д. Луцик – Львів : Вища школа, 1989. – 140 с.

LECTIN RECEPTOR OF APPARATUS OF THE INTERDIGITATING HISTIOCYTES OF PARACORTICAL AREA OF LYMPH NODE

©**О. Н. Kushch**

Zaporizhzhya State Medical University

SUMMARY. Empirically chosen lectin that specifically detects cells interdigitating histiocytes paracortical area. They found Snail lectin (HPA), which is a ligand to residues α NAcDGal. In the T Cell Areas width 10–15 microns localized HPA⁺-cells in a chain, like tagging paracortical area. HPA⁺-dendritic cells are sized catfish to 5–7 microns, which go from 4–7 shoots with convoluted. The presence of morphological processes is a manifestation of the close interaction between HPA⁺-cells with their microenvironment cells. For morphology antigen presentation star-shaped cells and their supposedly tight clamped between 9–12 cells. Most HPA⁺ - interdigitating histiocytes tracheobronchial lymph node cells of rats observed at 7 days after birth.

KEY WORDS: lymph node, interdigitating histiocytes, lectin Snail.

Отримано 20.06.2014