

УДК: 618.33/36-001.28-056.7:614.73:575
 © Куш О.Г., Волошин М.А., 2010

ДОСЛІДЖЕННЯ PLA^+ -ЛІМФОЦИТІВ-ХЕЛПЕРІВ В ДЕЦИДУАЛЬНІЙ ТКАНИНІ МАТКИ ПОРОДІЛЬ

Куш О.Г., Волошин М.А.

Запорізький державний медичний університет

Куш О.Г., Волошин Н.А. Исследование PLA^+ -лимфоцитов-хелперов в децидуальной ткани матки роженец // Украинський морфологічний альманах. – 2010. – Том 8. №2. – С. 118-120.

Впервые, применяя лектингистохимический метод описано распределение PLA^+ -лимфоцитов-хелперов в децидуальной ткани матки роженец. Антигенное воздействие на организм беременной в течение третьего триместра беременности и резус-несовместимость приводят к активации гуморального звена местного иммунитета матки, на фоне супрессии цитотоксического звена иммунитета за счет уменьшения количества $CD8^+$ -лимфоцитов.

Ключевые слова: беременность, матка, децидуальная ткань.

Куш О.Г., Волошин М.А. Дослідження PLA^+ -лімфоцитів-хелперів в децидуальній тканині матки породіль // Украинський морфологічний альманах. – 2010. – Том 8. №2. – С. 118-120.

Вперше, застосовуючи лектингистохімічний метод досліджено розподілення PLA^+ -лімфоцитів-хелперів в децидуальній тканині матки породіль. Антигенний вплив на організм вагітної протягом третього триместру вагітності та резус-несумісність призводять до активації гуморальної ланки місцевого імунітету матки, на тлі супресії цитотоксичної ланки імунітету за рахунок зменшення кількості $CD8^+$ -лімфоцитів.

Ключові слова: вагітність, матка, децидуальна тканина.

Kushch O., Voloshin N. Исследование Research of PLA^+ -lymphocytes-helpers в in uterine tissue deciduitis pregnant // Украинський морфологічний альманах. – 2010. – Том 8. №2. – С. 118-120.

For the first time, using the method described lektinogistohimicheskyy distribution of PLA^+ -lymphocytes-helpers in uterine tissue deciduitis pregnant. Antigenic effects on the body of a pregnant during the third trimester of pregnancy and Rhesus incompatibility leading to activation of local humoral immunity of the uterus, on the background of suppression of cytotoxic immunity set for reducing the number of $CD8^+$ -lymphocytes.

Key words: pregnancy, uterus, tissue deciduitis.

Введення. На сьогодні встановлено існування декількох механізмів, що забезпечують підтримку імунологічної толерантності при вагітності. Одним з них є активація популяції децидуальних $Th2$ -лімфоцитів, які секретують $IL-4$ $IL-10$, що перешкоджають активації цитотоксичних лімфоцитів [12]. Протягом вагітності тип локальної імунної відповіді в матці зсувається від клітинноопосередкованих в бік гуморальних. При цьому відбувається зміна ізотипу антитіл переважно в силу комплементнефіксуючих молекул ($Ig G_1$), що є менш безпечні для розвитку ембріону та плоду. Зсув акцента з $Th1$ на $Th2$ імунну відповідь, який супроводжується збільшенням синтезуємих антитіл при фізіологічно перебігаючій вагітності не є загрозливим для плоду, тому що плацента еволюційно адаптована до подібного роду впливу, так як фібриноід плаценти діє як сорбент, що здатен зв'язувати значну кількість антифетальних антитіл без якихось ознак пошкодження фето-плацентарного бар'єру [5]. Крім того, активація $Th2$ -шляху імунної відповіді, призведе до продукції антитіл, що проходять через плаценту. З іншого боку інфекційне захворювання може індукувати домінуючий персистентний стан $Th2$ -імунної ланки, що може привести до відміни імунологічної толерантності при вагітності.

В сучасних дослідженнях вивчення хелперної ланки імунітету в децидуальній оболонці матки проводилося з використанням моноклональних антитіл до $CD4$ -рецептору на лімфоцитах в гістологічних препаратах або методом проточної цитометрії [2, 6]. На сьогодні вивчення розподілу і

кількості $CD4$ -Т-лімфоцитів лектингистохімічним методом не проводилось.

Матеріали і методи досліджень. Проведене морфологічно-функціональне дослідження 61 плацент породіль, одержаних від своєчасних пологів живим плодом. Плаценти поділено на три групи. До першої групи увійшли 35 плацент породіль, вагітність яких була ускладнена вірогідним антигенним впливом на материнський організм у третьому триместрі вагітності (грип, ГРЗ, рецидив герметичної інфекції, кандидоз, тощо). До другої групи – 12 плацент породіль, вагітність яких була ускладнена резус-конфліктом без проявів гемолітичної хвороби плоду і новонародженого. До третьої групи увійшли 15 плацент з неускладненим перебігом вагітності. Для гістологічного дослідження кусочки плаценти забиралися з центральної та периферійної зони і фіксувалися в 10% розчині нейтрального формаліну. Виготовляли гістологічні препарати товщиною 6 мкм. Для виявлення лімфоцитів-хелперів в плаценті ставили лектингистохімічну реакцію по виявленню рецепторів на поверхні цитоплазматичної мембрани клітин до лектину лімської квасолі (*Phaseolus lunatus L.* - PLA) із застосуванням комерційного набору „Лектинтест” (м. Львів). Візуалізацію реакції проводили по наявності відкладень часточок бензидину на поверхні цитоплазматичної мембрани клітин. $CD4$ ($W3/25$) рецептор – трансмембранний поліпептид з цитоплазматичними і позаклітинними доменами [11]. До зовнішнього фрагменту рецептору приєднані вуглеводні залишки імуноглобулінової природи, до яких в свою чергу приєднані

олігосахариди - β 1,6-N-ацетилглюкозамін (β 1,6-GlcNAc, N-гліканового типу), отриманий з *Phaseolus vulgaris* (PHA). [9]. Лектин лімської квасолі та квасолі звичайної мають східні вуглеводні залишки, що є лігандами до вуглеводної частини CD4-рецептора. Крім того, для виявлення рецепторів CD4 можливо використовувати лейкоциттарний еритроаглютинин-лектин (L-PHA), що є фрагментом лектину з *Phaseolus vulgaris* (PHA). Для контролю специфічності гістохімічної реакції зрізи обробляли кон'югатом лектин квасолі лімської – пероксидазу хрину (PLA-HRP) з виключення із схеми обробки препаратів діамінбензидин. Для кількісного виявлення CD4⁺-PLA⁺-лімфоцитів підраховували їх число на 10000мкм². Результати обробляли методом варіаційної статистики. Результати вважали статистично вірогідними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. PLA⁺-лімфоцити – середнього діаметру клітини, з невеликим обідком цитоплазми. Нашарування часточок бензидину, що приєднуються до комплексу рецептор-кон'югат лектину квасолі лімської відбувається по поверхні цитоплазматичної мембрани клітини. PLA⁺-лімфоцити локалізовані переважно біля вільного краю відпадної оболонки матки.

За даними літератури на 30-тижні вагітності кількість CD4⁺-лімфоцитів в периферичній крові становить $21,4 \pm 4,4$ % від загальної популяції T-лімфоцитів, що вище ніж у невагітних жінок [8]. Експериментальні дані підтверджують, що в порівнянні з невагітними мишами імунізація вагітних самок призводить до формування більш високого рівня антитіл на тлі послаблення відповіді гіперчутливості повільного типу. Клінічні спостереження також дозволяють передбачати, що вагітність зсуває акцент імунних реакцій з Th1-відповіді на Th2-залежний шлях реагування (наприклад, клініка ревматоїдного артриту суттєво редукує, а системний червоний вовчак стрімко загострюється) [1]. На сьогодні досліджені молекулярні механізми Th2-домінування при вагітності, які забезпечуються системою цитокинів Th1- і Th2-лімфоцитів [10].

При фізіологічному зсуві рівноваги Th1/Th2 при вагітності в сторону Th2-відповіді спостеріга-

ється ефективний захист фетоплацентарної одиниці, одночасно такий зсув може несприятливо впливати на хід імунної відповіді по відношенню до внутрішньоклітинних інфекцій. За даними Ю.С. Березовського (2001) при імуногістохімічному дослідженні при фізіологічній вагітності кількість CD4⁺-лімфоцитів становить $4,6 \pm 1,3$ і CD8⁺-лімфоцитів – $1,6 \pm 0,8$ в полі зору. При патологічних станах – наявності антифосфоліпідних антитіл, кількість CD56⁺-лімфоцитів зростає вавчі і вони навіть утворюють великі скупчення. Кількість CD4⁺-лімфоцитів знижується до 3,2, співвідношення CD4/CD8 зменшувалося до 2,5/1. При замерлій вагітності, що супроводжується хламідійною інфекцією кількість CD56⁺-клітин навпаки в чотири рази знижується в порівнянні з нормою. Кількість CD4⁺ – лімфоцитів становила 1,2. Співвідношення CD4/CD8 – 1/1 [1].

Тому дослідження T-лімфоцитів хелперного фенотипу (CD4) доцільно вивчати в порівнянні з клітинноопосередкованими імунними реакціями. В попередніх наших роботах було досліджено: загальну кількість лімфоцитів, число SBA⁺-лімфоцитів, які ідентифікуються як B-лімфоцити, кількість CD8⁺-лімфоцитів в децидуальній тканині матки породіль при фізіологічно перебігаючій вагітності, при резус-конфлікти та після вірогідного антигенного впливу на організм вагітної протягом третього періоду вагітності (табл. 1) [4, 7]. Як видно з таблиці після зовнішнього антигенного впливу на організм вагітної та при резус-несумісності загальна кількість лімфоцитів децидуальної тканини матки зростає вавчі в порівнянні з фізіологічним перебігом вагітності. Зростання загальної кількості лімфоцитів відбувається як за рахунок PLA⁺-лімфоцитів-хелперів, так і за рахунок SBA⁺-B-лімфоцитів, що вказує на активацію гуморальної ланки імунітету. В попередніх наших роботах було доведено, збільшення кількості накопичення SBA⁺-імунних комплексів і антирезусних імунних комплексів в групах спостереження в порівнянні з групою контролю [3]. Одночасно спостерігається пригнічення цитотоксичної клітинної ланки імунітету – кількість CD8⁺-лімфоцитів зменшується в групах спостереження.

Таблиця 1. Кількісна характеристика лімфоцитів децидуальної тканини матки породіль

Групи спостереження вагітних	Загальна кількість лімфоцитів	Кількість PLA ⁺ -лімфоцитів	Кількість SBA ⁺ -лімфоцитів	Кількість CD8 ⁺ -лімфоцитів
I	$23,00 \pm 0,03^*$	$1,72 \pm 0,04^*$	$8,06 \pm 0,03^*$	$3,89 \pm 0,03^*$
II	$26,16 \pm 1,23^*$	$1,78 \pm 0,03^*$	$10,43 \pm 0,03^*$	$3,88 \pm 0,03^*$
III	$12,85 \pm 0,9$	$0,77 \pm 0,03$	$5,31 \pm 0,01$	$5,56 \pm 0,01$

Примітка: * - результат статистично достовірний по відношенню до групи порівняння.

Таким чином, при нормально перебігаючій вагітності відбувається зменшення кількості CD8⁺-лімфоцитів, що є додатковим механізмом, який сприяє формуванню Th2-залежної імунної реакції, за рахунок зростання числа CD4⁺-T-хелперів. Після дії антигенів на організм вагітної відбуваються реактивні зміни в стані гуморальної та цитотоксичної ланки місцевого імунітету децидуальної тканини матки.

Висновки:

- Після антигенного впливу на організм вагітної відбувається зростання кількості PLA⁺-лімфоцитів-хелперів в децидуальній тканині матки.
- Зростання кількості PLA⁺-лімфоцитів-хелперів відбувається з одночасним зменшенням кількості CD8⁺-цитотоксичних лімфоцитів в децидуальній тканині матки, що вказує на активацію гуморальної ланки вагітності над клітинноопосе-

редкованою наприкінці вагітності при фізіологічно перебігаючій вагітності та вагітності ускладненої антигенним тиском.

Перспективи подальших досліджень. Передбачається подальше дослідження Т-хелперної ланки імунітету лімфоїдної тканини асоційованої з децидуальною тканиною матки з використанням імунохімічного методу дослідження.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Березовский Ю. С. Иммунокомпетентные клетки в децидуальной ткани при нормальной беременности и раннем невынашивании / Ю. С. Березовский // Архив патологии. – 2001. – № 4. – С. 44–49.
2. Бондаренко Г. І. Особливості субпопуляційного складу імунокомпетентних клітин, виділених з децидуальної оболонки у першому триместрі фізіологічної вагітності / Г. І. Бондаренко, В. П. Чернишов, І. І. Слуквін // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 1993. – № 1. – С. 52–53.
3. Волошин М. А. Виявлення В-лімфоцитів у плаценті при резус-ізоімунному конфлікті матері та плоду / М. А. Волошин, О. Г. Куц // Вісник морфології. – 2007. – № 13 (2). – С. 290–293.
4. Волошин М. А. Особливості будови лімфоїдної тканини асоційованої з плацентою у породіль при фізіологічно перебігаючій вагітності та при змінній імунологічній реактивності материнського та плодового організмів / М. А. Волошин, О. Г. Куц // Український морфологічний альманах. – 2008. – Т. 6, № 1. – С. 64–67.
5. Глуховец Б. И. Патология послёда / Б. И. Глуховец, Н. Г. Глуховец – СПб. : ГРААЛЬ, 2002. – 448 с.
6. Значение субпопуляций децидуальных Т-хелперов в задержке внутриутробного развития плода / А. В. Кудряшова, Н. Ю. Сотникова, И. А. Панова, Н. Ю. Филинова // Иммунология репродукции. – 2003. – Т.5. – С. 337–338.
7. Куц О. Г. Особливості будови і реактивності лімфоїдної тканини, асоційованої з децидуальною тканиною / О. Г. Куц, М. А. Волошин // Здобутки клініч. і експерим. медицини. – 2007. – № 2 (7). – С. 105–107.
8. Парашук Ю. С. Состояние фетоплацентарного комплекса при материнской инфекции / Ю. С. Парашук, С. В. Покрышко // Инфекционный контроль. – 2000. – № 1–2. – С. 13–14.
9. Expression of beta 1-6-branched N-linked oligosaccharides is associated with activation in human T4 and T8 cell populations / S. Lemaire, C. Derappe, J.C. Michalski [et al.] // J. Biol. Chem. – 1994. - Vol. 269, № 11. - P. 8069-8074.
10. No difference in natural killer or natural killer T-cell population, but aberrant T-helper cell population in the endometrium of women with repeated miscarriage / S. Shigeki, E. H. Kato, M. Morikawa [et al.] // Human Reproduction. – 2004. – Vol. 19, № 4. – P. 1018–1024.
11. Peptide and nucleotide sequences of rat CD4 (W3/25) antigen: evidence for derivation from a structure with four immunoglobulin-related domains // S. J. Clark, W. A. Jefferies, A. N. Barclay [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. - 1987. - № 84(6).- P. 1649–1653.
12. Synthesis of T helper 2-type cytokine at the maternal-fetal interface / H. Lin, T.R. Mosmann, L. Guilbert [et al.] // J. Immunol.- 1993.- V 151.- P. 4562-4570.

УДК: 577.17+577.15:611.018.4

© Літовка І.Г., Весельський С.П., Березовський В.Я, Заморська Т.М., 2010

ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА ЛІПІДИ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ДОРОСЛИХ ЩУРІВ

Літовка І.Г., Весельський С.П., Березовський В.Я, Заморська Т.М.

*Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України, *Інститут фізіології імені академіка Петра Богача Київського Національного університету імені Тараса Шевченка*

Літовка І.Г., Весельський С.П., Березовський В.Я, Заморська Т.М. Вплив мелатоніну на ліпіді кісткової тканини дорослих щурів // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 120-122.

Досліджували вплив 28-денного перорального введення екзогенного мелатоніну у дозі 1 мг/кг на ліпіді кісткової тканини 11- та 15-місячних щурів-самців лінії Вістар. У 11-міс. щурів спостерігали вірогідне підвищення концентрації фосфоліпідів на 19%, зниження вмісту загального холестерину і вільних жирних кислот відповідно на 22,4% і 23,0%. Тоді як у 15-міс. щурів вірогідно зростала лише концентрація фосфоліпідів. Такі зміни дозволяють висловити припущення, що екзогенний мелатонін опосередковано впливає на кістковий метаболізм шляхом підвищення вмісту полярних ліпідів.

Ключові слова: щури, кістка, ліпіді, мелатонін.

Литовка И.Г., Весельский С.П., Березовский В.А, Заморская Т.М. Влияние мелатонина на липиды костной ткани взрослых крыс // Украинский морфологический альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 120-122.

Исследовали влияние 28-дневного перорального введения экзогенного мелатонина в дозе 1 мг/кг на липиды костной ткани 11- и 15-месячных крыс-самцов линии Вистар. У 11-мес. крыс наблюдали достоверное повышение концентрации фосфолипидов на 19%, снижение содержания общего холестерина и свободных жирных кислот соответственно на 22,4% и 23,0%. Тогда как у 15-мес. крыс достоверно росла лишь концентрация фосфолипидов. Такие изменения позволяют выразить предположение, что экзогенный мелатонин опосредствовано влияет на костный метаболитизм путем повышения содержания полярных липидов.

Ключевые слова: крысы, кость, липиды, мелатонин.

Litovka I.G., Vesel'skii S.P., Berezovskii V.A, Zamorska T.M. Influence of melatonin on lipids of bone tissue of the adult rats // Украинский морфологический альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 120-122.

Investigation influence 28-day peroral introduction of exogenous melatonin in a dose 1 mg/kg on lipids of bone tissue of 11- and 15-month rats-males of the Vistar. In 11-month rats were looked reliable increase of concentration of phospholipids on the 19%, decrease of the total cholesterol and free fat acids accordingly on the 22,4% and 23,0%. Then in 15-month rats increase of the concentration phospholipids. Such changes allow to express supposition, that exogenous melatonin mediated influence on the bone metabolism by the increase of concentration of polar lipids.

Key words: rats, bone, lipids, melatonin.