

УДК 611.428.018.1-053.31+[618.29+618.33]-097.1

О. Г. КУЩ, Н. Г. ВАСИЛЬЧУК, І. В. ПАВЛЕНКО

м. Запоріжжя

МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ АНТИГЕНІВ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ НА ПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ КЛІТИН МЕДІАСТЕНАЛЬНОГО ЛІМФАТИЧНОГО ВУЗЛА У ЩУРІВ НА РАННІХ ЕТАПАХ ПІСЛЯНАТАЛЬНОГО РОЗВИТКУ

Аналіз результатів морфологічних досліджень показав, що існують відмінності у реакції медіастенального лімфатичного вузла на внутрішньоплідну імунізацію антигенами різного генезу. Достовірне зростання мітотичної активності у антигенпремійованих щурів виявляється вже починаючи з першої доби після народження, але максимальне збільшення кількості мітозів приходить на тридцяті добу післянатального розвитку. Введення вірусної вакцини більш виражено стимулювало проліферативну активність у кірковій зоні, а імунізація γ -імуноглобуліном у мозковій речовині медіастенального лімфатичного вузла.

Ключові слова: медіастинальний лімфатичний вузол, мітотична активність, вірусна вакцина, антиген – імуноглобулін людини.

Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії і кафедри гістології, цитології та ембріології Запорізького державного медичного університету «Лектин-гістохімічна характеристика морфогенезу органів і тканин в ранньому постнатальному періоді онтогенезу» (№ держреєстрації 0109U003986).

Постановка проблеми. Як відомо з літературних джерел, антигенне навантаження у критичні терміни онтогенезу може викликати значні поломки в імунній системі дитини. У ранньому віці різниця між імуностимулюючими та імунодепресивними дозами антигенів не дуже велика. Малі дози антигенів не можуть здолати імунологічну інертність незрілого організму, а великі – здатні викликати імунодепресивний стан. Особливості взаємодії плоду або новонародженого з антигенами можуть бути вирішальними у формуванні їх імунного статусу в майбутньому [1, 2].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Медіастенальні лімфатичні вузли відносяться до периферійних імунних органів, що відіграють важливу роль у морфогенезі та функціонуванні органів середостіння. Механізм функціонування лімфатичних вузлів залежить від структурної організації їх компонентів та характеру антигенного впливу [3, 4, 5, 6, 7].

На сьогоднішній день загальноприйнятим та підтвердженим рядом досліджень вважається той факт, що внутрішньоутробне проникнення антигенів викликає прискорення міграції з тимуса на периферію імунологічно незрілих лімфоцитів, впливаючи на морфологічний та функціональний розвиток органів [8, 9, 10].

Медіастенальний лімфатичний вузол розташовується на шляху виходу лімфи із тимусу, і має одним з перших реагувати на Т-імуностимулюючі сигнали, чим викликає науковий інтерес у якості об'єкта дослідження.

Постановка завдання. Дослідити мітотичну активність у кірковій та мозковій зонах медіастенального лімфатичного вузла білих щурів після внутрішньоплідного інфікування в ранньому періоді онтогенезу залежно від характеру антигену.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили на трьох групах лабораторних щурів лінії Вістар: перша – інтактні щури (n=24); друга – експериментальні тварини, яким вводили γ -імуноглобулін людини внутрішньоплідно на 18 – добу внутрішньоутробного розвитку (n=30); третя група – щури, яким вводили інактивовану спліт-вакцину «Ваксігріп» для профілактики грипу (Sanofi pasteur S.A., Франція), що містить геммаглютиніни вірусних штамів грипу в сумарній дозі 45 мкг (n=30). Введення антигенів

плодам здійснювалося лапаротомічно, шляхом крізьматочної ін'єкції об'ємом 0,05 мл кожному плоду за способом, розробленим М. А. Волошиним зі співавторами [11]. Всі експериментальні процедури проводилися відповідно до «Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях» [12]. На умовній одиниці площі 10000 мкм² проводився підрахунок кількості лімфоїдних вузликів кіркової зони медіастинального лімфатичного вузла. Кількість фігур мітозу підраховували за допомогою модифікованої сітки Глаголева у перерахунку на умовну одиницю площі – 1000 мкм².

Враховуючи добові коливання популяції лімфоцитів, матеріал для досліджень забирали з 13.00 до 14.00 шляхом декапітації щурів під тіопенталовим наркозом на 1-у, 3-у, 7-у, 11-у, 14-у, 21-у, 30-у, 45-у та 60-у добу після народження. Медіастенальні лімфатичні вузли у складі органокomплексу фіксували в розчині Буена. Виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5–6 мкм. Для гістологічних досліджень зрізи фарбували гематоксиліном і еозином та ставили ШИК-реакцію. Вивчення клітинного складу структур медіастинальних лімфатичних вузлів проводили при збільшенні (10 × 90). 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 [13].

Результати дослідження та їх обговорення. Результати проведених морфологічних досліджень (табл. 1) показали, що внутрішньоплідне введення антигенів щурам спричинило достовірне збільшення кількості фігур мітозу вже починаючи з 1-ї доби після народження. Якщо значення відповідних показників у інтактних тварин (норма) прийняти за 100 %, то у щурів, імунізованих спліт-вакциною «Ваксігріп» в кірковій і мозковій речовинах кількість мітозів зростає, відповідно на 29,4% та 88,9%. Імунізація γ-імуноглобуліном людини спричинила достовірне (p < 0,05) зростання фігур мітозу у мозкових тязях на 100%, порівняно з нормою (табл. 1).

Таблиця 1
Кількість фігур мітозу у різних зонах медіастенального лімфатичного вузла в нормі та після антенатальної антигенної стимуляції

Доба	Кіркова зона	Мозкові тязі	Кількість лімфоїдних вузликів
<i>Норма</i>			
1	2,83 ± 0,31	1,50 ± 0,22	–
3	3,33 ± 0,21	2,50 ± 0,22	–
7	3,50 ± 0,22	2,83 ± 0,40	–
11	4,83 ± 0,31	3,17 ± 0,31	–
14	4,00 ± 0,26	3,00 ± 0,26	–
21	3,50 ± 0,22	2,50 ± 0,22	2,00 ± 0,26
30	3,17 ± 0,17	1,50 ± 0,22	3,00 ± 0,37
45	4,17 ± 0,31	2,83 ± 0,17	4,00 ± 0,37
60	4,83 ± 0,31	3,00 ± 0,26	4,33 ± 0,33
<i>Група антенатально імунізована γ-імуноглобуліном</i>			
1	3,50 ± 0,22	3,00 ± 0,26*	–
3	4,17 ± 0,31*	2,83 ± 0,31	–
7	4,17 ± 0,31	3,00 ± 0,26	–
11	7,5 ± 0,428*	3,17 ± 0,307	–
14	5,5 ± 0,428*	3,67 ± 0,33	2,33 ± 0,33*
21	4,17 ± 0,31	3,17 ± 0,31	3,33 ± 0,42*
30	4,33 ± 0,33*	3,33 ± 0,21*	4,67 ± 0,33*
45	5,00 ± 0,37	4,00 ± 0,26*	4,00 ± 0,37
60	5,50 ± 0,43	3,83 ± 0,31	4,17 ± 0,31
<i>Група антенатально імунізована спліт-вакциною «Ваксігріп»</i>			
1	3,67 ± 0,21*	2,83 ± 0,31*	–
3	4,50 ± 0,223*	2,50 ± 0,22	–
7	4,67 ± 0,33*	3,33 ± 0,21	–
11	8,17 ± 0,31	3,17 ± 0,17	–
14	5,83 ± 0,31*	3,67 ± 0,33	3,17 ± 0,31*
21	5,00 ± 0,37*	3,50 ± 0,22*	5,00 ± 0,37*
30	7,00 ± 0,52*	2,67 ± 0,21*	6,00 ± 0,37*
45	5,50 ± 0,43*	3,50 ± 0,22*	5,00 ± 0,37
60	5,33 ± 0,33	3,50 ± 0,22	4,67 ± 0,33

Примітка: * – відмінність достовірна порівняно з контрольною групою (p < 0,05)

На 3-ю добу післянатального розвитку достовірне зростання мітотичної активності виявлено лише у кірковій зоні меіастинального лімфатичного вузла щурів вищезазначених груп, відповідно на 35% та 25% порівняно з нормою. Лімфоїдні вузлики у цей термін ще не диференціюються.

На 7-му добу достовірно збільшення кількості мітозів на 1000 мкм² виявлено лише у кірковій зоні медіастинального лімфатичного вузла щурів, імунізованих спліт-вакциною «Ваксігрип» (на 33,3%). Гермінативні центри лімфоїдних вузликів все ще не диференціюються.

На 11-ту добу достовірно ($p < 0,05$) зростання числа фігур мітозів виявлено лише в кірковій зоні медіастинального лімфатичного вузла щурів, яким внутрішньоплідно було введено γ -імуноглобулін людини (на 55 % порівняно з нормою).

На 14-ту добу після народження в кірковій зоні медіастинального лімфатичного вузла щурів обох експериментальних груп відмічалось зростання мітотичної активності. Так, у щурів внутрішньоплідно імунізованих γ -імуноглобуліном людини цей показник збільшився на 37,5%, а у тварин, яким вводили спліт-вакцину – на 45,8%. В мозковій речовині медіастинального лімфатичного вузла щурів обох експериментальних груп не відбулося достовірних змін, порівняно з групою інтакту (табл. 1). Необхідно також зазначити, що саме у цей термін післянатального розвитку у імунізованих щурів вже намічаються лімфоїдні вузлики, в той час як у нормі ці структури ще важко розрізнити.

21-ша доба експерименту показала наявність різниці характеру антигенного впливу на структуру медіастинального лімфатичного вузла. У щурів, антенатально імунізованих «Ваксігрип» усі досліджувані показники зазнали достовірних змін порівняно з нормою. Так, кількість фігур мітозу в кірковій та мозковій речовині збільшилось, відповідно на 42,9% та 40%. В нормі у цей термін уже виділяються лімфоїдні вузлики, проте у імунізованих спліт-вакциною щурів показник збільшився на 150%. медіастинальний лімфатичний вузол експериментальних щурів, яким на 18-ту добу датованої вагітності внутрішньоплідно вводили γ -імуноглобулін зазнали достовірних змін лише за кількістю лімфоїдних вузликів. Цей показник збільшився на 66,7% порівняно з нормою.

30-та доба після натального розвитку імунізованих щурів характеризується максимальною проліферативною активністю в

обох експериментальних групах. Саме у цей термін відмічалась найбільша кількість лімфоїдних вузликів у корі медіастинального лімфатичного вузла. Введення спліт-вакцини «Ваксігрип» сприяло зростанню даного показника на 100%, а γ -імуноглобуліну – на 55,6% (табл. 1). Кількість мітозів в кірковій і мозковій речовині у першому випадку збільшилась на 121% і 77,8%, відповідно, а у другому – на 37% і 122%. При цьому слід зазначити, що γ -імуноглобулін, введений внутрішньоплідно більш виражено стимулював проліферативні процеси в мозковій речовині, яка відповідає за гуморальну ланку імунітету. В той час як антенатальна імунізація «Ваксігрип» сприяла збільшенню кількості мітозів у кірковій зоні медіастинального лімфатичного вузла, стимулюючи клітинну ланку імунного захисту організму.

На 45-ту добу спостережень кількість мітозів в медіастинальному лімфатичному вузлі експериментальних щурів продовжує дещо зростати, проте у процентному співвідношенні порівняно з нормою різниця поступово нівелюється і вже на 60-ту добу достовірних відмінностей між показниками дослідної групи та нормою немає.

Отримані результати підтверджують існування взаємозв'язку між впливом антенатальної імунізації як на регіонарні лімфатичні вузли, так і на інші органи і тканини організму, що підтверджується рядом наукових досліджень [14].

Висновки та перспективи подальших досліджень.

1. Нами виявлено, що на ранніх етапах інфекційного процесу спостерігалось інтенсивне утворення центрів розмноження в медіастинальному лімфатичному вузлі. Про активність В-клітинних зон лімфатичного вузла говорить зростання кількості фігур мітозу, особливо при антенатальному введенні γ -імуноглобуліну людини з піком мітотичної активності на 30-ту добу післянатального розвитку.
2. Внутрішньоплідна імунізація спліт-вакциною «Ваксігрип» достовірно збільшувала проліферативну активність переважно у кірковій речовині, з піком на 30-ту добу.

В перспективі досліджень вивчатимуться розподіл рецепторів клітин медіастинально-

го лімфатичного вузла за допомогою лектин-гістохімічного методу.

Список використаних джерел

1. Федосеева О. В. Закономерности структурной организации лимфоидных структур толстой кишки человека в детском возрасте. / О. В. Федосеева // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. — Збірник наукових статей. — 2007, вип. 19, т. 2, — С. 284—288.
2. Библик Е. Ю. Возрастные различия строения брыжеечных лимфатических узлов белых крыс в постнатальном онтогенезе / Е. Ю. Библик // Вісник проблем біології і медицини. — 2006. — Вип. 2. — С. 180.
3. Волошин М. А. Основи імунології та імуноморфології / М. А. Волошин, Ю. Б. Чайковський, О. Г. Кущ. — Запоріжжя-Київ, 2010. — 170 с.
4. Романюха А. А. Иммунная система: норма и адаптация / А. А. Романюха // Иммунология. — 2009. — Т. 30, № 1. — С. 7—12.
5. Anderson A. O. Conduit for Privileged Communications in the Lymph Node / A. O. Anderson, S. Shaw // Immunology. — 2005. — Vol. 22, № 1. — P. 3—5.
6. Антипов Н. В. Морфологические особенности лимфатических узлов / Н. В. Антипов // Український морфологічний альманах. — 2012. — Т. 10, № 2. — С. 3—5.
7. Mebius R. E. Organogenesis of lymphoid tissues / R. E. Mebius // Nat. Rev. Immunology. — 2003. — Vol. 3. — P. 292—303
8. Волошин Н. А. Лимфоцит – фактор морфогенеза / Н. А. Волошин // Запоріжський медичний журнал. — 2005. — № 5. — С. 123.
9. Сырцов В. К. Периферические органы иммунной системы / В. К. Сырцов, Н. А. Волошин, Е. Г. Алиева // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики — 2011. — Вип. XXIV, № 1. — С. 8—11.
10. Апт О. А. Особенности морфогенеза білої пульпи селезінки щурів у ранньому післянатальному періоді онтогенезу в нормі та після внутрішньо плідного введення антигенів різної природи / О. А. Апт, О. С. Таланова // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. — 2011. — Т. 24, № 1. — С. 18—21.
11. Волошин Н. А. Внутритробоная антипенная стимуляция как модель для изучения морфогенеза органов / [Н. А. Волошин, Е. А. Григорьева, О. Г. Кущ и др.] // Морфологические ведомости. — № 1—2, прил. № 1. — 2006. — С. 57—59.
12. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експер. та клін. фізіол. біохімія. — 2003. — №2 (22). — С. 108—109.
13. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных / О. Ю. Реброва. — М.: Издательство Медиа Сфера, 2006. — 305 с.
14. Кущ О. Г. Роль внутрішньоepідермальних лімфоцитів в регуляції мітотичної активності в epідермісі / О. Г. Кущ // Український медичний альманах — 2000. — Т. 3, №1 (додаток). — С. 34—35.

O. G. KUSHCH, N. G. VASYLCHUK, I. V. PAVLENKO
Zaporozhye

MORPHOLOGICAL STADU OF THE ANTIGENS EFFECT OF VARIOUS ORIGINS ON PROLIFERATIVE ACTIVITY CELLS OF MEDIASTINAL LYMPH NODE IN RATS AT EARLY STAGES OF AFTER NATAL DEVELOPMENT

The analysis of the results of morphological studies has shown that there are differences in the reaction of mediastinal lymph node on fetal immunization by antigens of various genesis. The significant increase of mitotic activity in antigen-vaccinated rats is already seen starting from the 1st day after birth, but the maximum increase in the number of mitoses falls on the 13th day of after natal development. The injection of virus vaccine stimulated proliferative activity in cortical area and immunization of γ -immunoglobulin in marrow stimulated mediastinal lymph node.

Keywords: mediastinal lymph node, mitotic activity, viral vaccine, antigen – human immunoglobulin.

О. Г. КУЩ, Н. Г. ВАСИЛЬЧУК, И. В. ПАВЛЕНКО
Запорожье

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АНТИГЕНОВ РАЗНОГО ГЕНЕЗА НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК МЕДИАСТЕНАЛЬНОГО ЛИМФАТИЧЕСКОГО УЗЛА У КРЫС НА РАННИХ ЭТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

Анализ результатов морфологических исследований показал, что существуют различия в реакции медиастенонального лимфатического узла на внутриплодную иммунизацию антигенами различного генеза. Достоверное возрастание митотической активности в антиген стимулированных крыс проявляется уже начиная с первых суток после рождения, но максимальное увеличение количества митозов приходится на тридцатые сутки посленатального развития. Введение вирусной вакцины более выражено стимулировало пролиферативную активность в корковом зоне, а иммунизация γ -глобулином в мозговом веществе медиастенонального лимфатического узла.

Ключевые слова: медиастинальный лимфатический узел, митотическая активность, вирусная вакцина, антиген – иммуноглобулин человека.

Стаття надійшла до редколегії 10.06.2014