

KEY WORDS: polietilenglycol, cellular membranes, biohemiluminescence, phosphorescence

УДК: 616.428-053.13/4-036.88-02: 618.3-06: 616.98:578.828.6]-091.8

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ МАТЕРЕЙ

И.В. Сорокина¹, С.А. Шерстюк²

¹Харьковский государственный медицинский университет, Украина

²Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

РЕЗЮМЕ

С целью выявления морфологических особенностей мезентериальных лимфатических узлов у плодов и новорожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, был изучен лимфоидный компонент органа с использованием морфологических, иммуногистохимических и морфометрических методов. Выявлены морфологические признаки значительного нарушения функциональной активности Т-лимфоцитов и в меньшей степени угнетение популяции В-лимфоцитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ВИЧ-инфекция, мезентериальные лимфатические узлы, лимфоциты

Мезентериальные лимфатические узлы являются периферической частью иммунной системы [5]. В них происходит антигензависимая пролиферация и дифференцировка В-лимфоцитов, с последующим образованием В-клеток памяти и антителопродуцирующих клеток в мезентериальных лимфатических узлах обеспечивает их эффективное взаимодействие в ходе иммунного ответа [10]. ВИЧ по своей природе в первую очередь является иммунотропным, поэтому иммунная система начинает играть все более активную роль в общем патогенезе заболевания. ВИЧ связывается с компонентом клеточной мембраны (CD4⁺) проникает через мембрану клетки и разрушает ее. Антиген CD4⁺ содержат: Т₄ – лимфоциты-хелперы, моноциты (макрофаги), дендритические антигенпредставляющие клетки лимфоидных органов и кожи, а также около 5% В-лимфоцитов [8], следовательно ВИЧ оказывает прямое влияние на морфологическую структуру мезентериальных лимфатических узлов.

В литературе имеются данные о морфологических изменениях органов дыхательной, пищеварительной, ЦНС при ВИЧ инфекции у детей [2]. Данные о влиянии ВИЧ инфекции матери на морфологическое состояние мезентериальных лимфатических узлов плодов и новорожденных в литературе не обнаружены.

Целью настоящего исследования явилось выявление морфологических особенностей мезентериальных лимфатических узлов у плодов и новорожденных от ВИЧ-инфицированных матерей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили

плазматических клеток [9]. Среди Т-лимфоцитов в мезентериальных лимфатических узлах преобладают CD4⁺, а CD8⁺-клетки встречаются значительно реже [5]. Строго определенное взаимное расположение Т- и В-лимфоцитов, макрофагов, дендритных мертворожденные плоды и умершие новорожденные от ВИЧ-инфицированных матерей. Материал собирался с 1998 по 2006 г. в Харьковском перинатальном центре, Одесском и Днепропетровском патологоанатомических бюро. В исследуемую группу было отобрано 10 мертворожденных и 6 новорожденных от матерей с серологически подтвержденной ВИЧ-инфекцией. Для получения достоверных данных материал подбирался тщательно. Ни в одном из этих наблюдений не были зарегистрированы оппортунистические заболевания. Мертворожденные погибли вследствие острого нарушения пуповинно-плацентарного кровообращения (отслойка плаценты, обвитие пуповины вокруг различных частей тела плода) и родовой травмы. Новорожденные умирали вследствие постнатальной асфиксии и связанной с ней внутриутробной пневмонии. Группу контроля составили мертворожденные дети от здоровых матерей (12 случаев). Причиной смерти плодов явилось острое нарушение пуповинно-плацентарного кровообращения и родовые травмы. Срок гестации мертворожденных и новорожденных составил 36-40 недель.

Из мезентериальных лимфатических узлов вырезались кусочки из разных участков, которые подвергались стандартной парафиновой проводке, после чего изготавливались срезы толщиной 5-6 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Для определения

степени зрелості і належності лімфоцитів к той или иной субпопуляції проводили імуногістохімічне дослідження з МКА к CD3, CD4⁺, CD8⁺, CD1, CD22, CD10, ИЛ-4, ИЛ-7, поверхні рецептори к которым они експресують (Novocastra Laboratories Ltd, UK).

Препарати изучали в люмінесцентному мікроскопі ЛЮМАМ И2 з використанням світлофільтрів: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3.

Комплекс імуногістологічних і морфометричних досліджень проводили на мікроскопі Olympus BX-41 з використанням програм Olympus DP-Soft (Version 3:1) і Microsoft Excel [3]. Вислісяла густина кліток, відносні об'єми структурно-функціональних зон, а також відносна густина основних клонів імунних кліток. Все цифрові дані оброблялись методами варіаційної статистики. При цьому вислісяли середню арифметичну (\bar{x}), дисперсію (\bar{x}^2), середнькватратическе відхилення (\bar{x}), середню помилку різниці (m), вірогідність різниці (p). Вірогідність різниці між двома середніми при малих вибірках визначали по таблиці Стюдента з дотриманням умови (p_1+p_2-2). При контролі ($p<0,05$) (рис. 1). Густина кліткових елементів в мезентеріальних лімфатических вузлах цієї групи значно знижена, по сранненню з групою контролю ($p<0,05$), це обумовлено дефіцитом всіх зрілих (CD3, CD4⁺, CD8⁺) і молодих форм Т-лімфоцитів (CD1), а також зменшенням

визначенні ступеня вірогідності допускали точність $p<0,05$, що, як відомо, відповідає $P>95,0\%$ [4].

Проводилися кореляційні аналізи між густиною тимоцитів мозгового речовини тимуса і паракортикальною зоною мезентеріальних лімфатических вузлів плодів і новонароджених від ВІЧ-інфіцирваних матерей.

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБСУЖДЕНИЕ

Мезентеріальні лімфатическі вузли в залежності від будови тимуса у плодів і новонароджених від ВІЧ-інфіцирваних матерей розділені на 3 групи: 1 – мезентеріальні лімфатическі вузли при простій дисплазії тимуса, 2 – мезентеріальні лімфатическі вузли при дисплазії з атрофією тимуса, 3 – мезентеріальні лімфатическі вузли при гіперплазії тимуса.

В мезентеріальних лімфатических вузлах плодів і новонароджених з простою дисплазією тимуса спостерігається зменшення відносного об'єму кори, паракортикальної зони і збільшення відносного об'єму мозгового речовини, по сранненню з групою

макрофагальної (CD16) і інтерлейкіну – 4, – 7-продуцируючої активності ($p<0,05$). Однак відносний об'єм молодих (CD10) і зрілих В-лімфоцитів (CD22) проявляє тенденцію к збільшенню, по сранненню з групою контролю ($p<0,05$) (табл. 3).

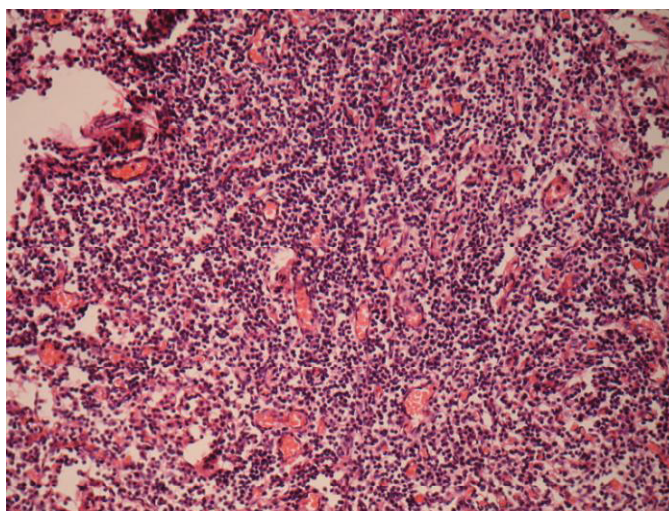


Рис. 1. Мезентеріальний лімфатический вузол при простій дисплазії тимуса у плода від ВІЧ-інфіцирваної матері. Структура лімфатических вузлів порушена за рахунок лімфоїдного опустошення. Окраска гематоксилином і еозином, $\times 200$

В групі плодів і новонароджених з дисплазією з атрофією тимуса в мезентеріальних лімфатических вузлах спостерігається, також як і в групі з простою дисплазією тимуса, зменшення відносного об'єму

кори, паракортикальної зони і збільшення відносного об'єму мозгового речовини, по сранненню з групою контролю ($p<0,05$) (рис. 2). Густина кліток кори, паракортикальної зони і мозгового речовини в мезен-

териальных лимфатических узлах с дисплазией с атрофией тимуса снижена, по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). Это обусловлено резким уменьшением популяции всех форм Т-лимфоцитов ($CD3$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD1$), макрофагов ($CD16$) и ИЛ-4, ИЛ-7 – продуцентов, по сравнению с группой кон-

троля (табл. 1, 2, 3). Относительный объем молодых ($CD10$) и зрелых ($CD22$) В-лимфоцитов увеличивается (таблица 3). Иммунорегуляторный индекс из-за нарушения пропорционального соотношения между $CD4^+$ и $CD8^+$ возрастает, по сравнению с группой контроля.

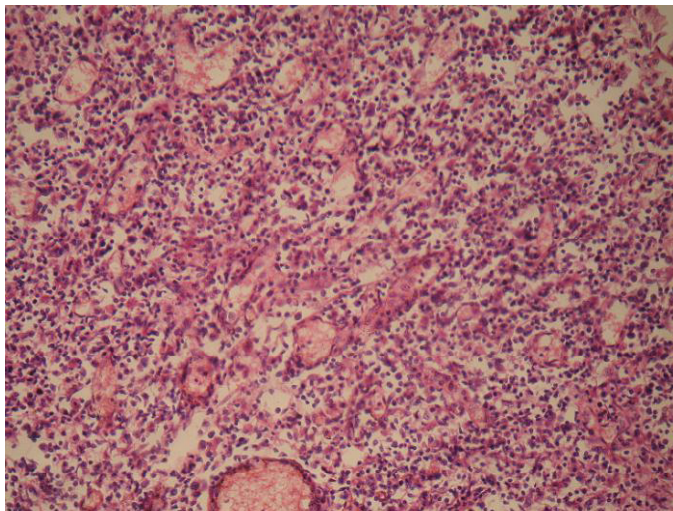


Рис. 2. Мезентериальный лимфатический узел при дисплазии с атрофией тимуса у плода от ВИЧ-инфицированной матери. Структурно функциональные зоны на фоне лимфоидного опустошения различимы с трудом. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$.

Относительные объемы основных структурных компонентов мезентериальных лимфатических узлов плодов, новорожденных и детей, умерших в раннем возрасте от ВИЧ-инфицированных матерей ($\bar{x} \pm x$) (%) Таблица 1

Группы	Структурно-функциональные зоны мезентериальных лимфатических узлов		
	Кора	Паракортикальная зона	Мозговое вещество
Контроль № 20	33,0 \pm 0,96	34,5 \pm 0,71	32,5 \pm 0,99
Плоды и новорожденные с простой дисплазией тимуса № 3	26,0 \pm 2,29*	30,5 \pm 1,73*	43,5 \pm 0,83*
Плоды и новорожденные с дисплазией с атрофией тимуса № 5	28,5 \pm 1,52*	33,0 \pm 2,44	38,5 \pm 1,88*
Плоды и новорожденные с гиперплазией тимуса № 3	33,5 \pm 2,58	40,5 \pm 1,59*	26,0 \pm 3,15*

* $P < 0,05$ - по сравнению с контроля

Плотности клеток мезентериальных лимфатических узлов плодов и новорожденных от ВИЧ-инфицированных матерей (количество в 1 мм^2), $\bar{x} \pm x$ Таблица 2

Группы	Структурно-функциональные зоны мезентериальных лимфатических узлов		
	Кора	Паракортикальная зона	Мозговое вещество
Контроль № 20	6603,0 \pm 89,0	7554,0 \pm 101,0	5387,0 \pm 79,0
Плоды и новорожденные с простой дисплазией тимуса № 3	4277,0 \pm 75,0*	3233,0 \pm 54,0*	3870,0 \pm 57,0*
Плоды и новорожденные с дисплазией с атрофией тимуса № 5	5668,0 \pm 75,0*	6304,0 \pm 68,0*	3512,0 \pm 87,0*
Плоды и новорожденные с гиперплазией тимуса № 3	8777,0 \pm 87,0*	9340,0 \pm 44,0*	5670,0 \pm 73,0*

* $P < 0,05$ - по сравнению с контроля.

Относительные объемы основных клонов иммунных клеток в мезентериальных лимфатических узлах плодов и новорожденных от ВИЧ-инфицированных матерей ($\bar{x} \pm x$) (%) Таблица 3

CD-маркеры	Группы сравнения			
	Контроль (плоды)	Простая дисплазия	Дисплазия с атрофией	Гиперплазия
CD3	62,0 \pm 11,0	12,0 \pm 1,7*	14,0 \pm 3,0*	68,0 \pm 13,2

CD4 ⁺	11,0±2,1	4,0±0,7*	5,0±1,1*	10,0±2,1
CD8 ⁺	29,0±5,0	10,0±1,7*	11,0±1,2*	32,0±6,0
CD1	49,0±8,3	11,0±1,9*	13,0±1,6*	43,0±8,2
CD10	7,0±1,7	14,0±2,1*	16,0±2,0*	6,0±1,8
CD22	30,0±7,0	54,0±8,0*	56,0±7,9*	27,0±6,2
CD16	14,0±4,0	6,0±1,8*	8,0±2,3	17,0±3,3
ИЛ-4	0,8±0,003	0,2±0,00*	0,6±0,002*	0,8±0,003
ИЛ-7	0,9±0,005	0,4±0,00*	0,5±0,001*	0,9±0,002
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0,37±0,02	0,4±0,01	0,45±0,02*	0,31±0,02*

*P<0,05 - по сравнению с контролем

В группе мезентериальных лимфатических узлов при гиперплазии тимуса выявлено увеличение относительного объема коры, паракортикальной зоны и, следовательно, уменьшение относительного объема мозгового вещества, по сравнению с группой контроля, а также увеличение плотности клеток всех зон (табл. 1, 2; рис. 3). Иммуногистохимически определяется увеличение популяции CD3 и CD8⁺-клеток и уменьшение CD4⁺ и CD1 – Т-лимфоцитов, несмотря на нормальное содержание ИЛ-4 и ИЛ-7 – продуцентов. Молодые и зрелые В-лимфоциты уменьшают свою популяцию (CD10, CD22). Макрофагальная активность возрастает. Иммунорегуляторный индекс уменьшается, по

сравнению с группой контроля (табл. 3).

Уменьшение относительного объема всех форм Т-лимфоцитов в мезентериальных лимфатических узлах с простой дисплазией тимуса и с дисплазией с атрофией тимуса у плодов и новорожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, по-видимому, обусловлено нарушением пролиферации, дифференцировки тимоцитов в тимусе, а также их миграции в периферические органы иммунной системы [6]. Однако гуморальное звено иммунной системы у этих детей находится в фазе повышенной стимуляции, на что указывает повышение относительного объема В-лимфоцитов.

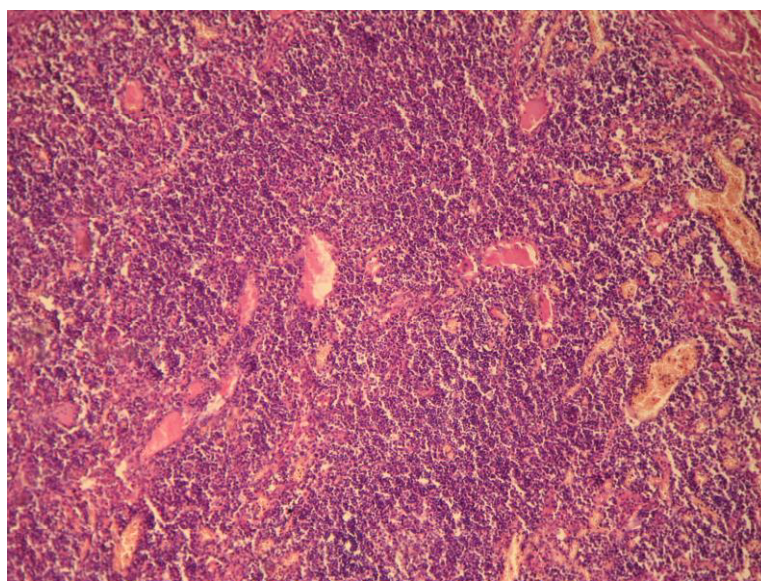


Рис. 3. Мезентериальный лимфатический узел при гиперплазии тимуса у плода от ВИЧ-инфицированной матери. Граница перехода структурно-функциональных зон практически не определяется из-за высокой плотности лимфоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, х200

В мезентериальных лимфатических узлах с гиперплазией тимуса наблюдается картина высокой стимуляции клеточного звена иммунной системы, характеризующейся повышенной миграцией тимоцитов из тимуса. О чем свидетельствует увеличение в мезентериальных лимфатических узлах относительного объема зрелых Т-лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD3 и CD8⁺ [6]. Уменьшение CD1 – Т-лимфоцитов, по-видимому, говорит о нарушении пролиферативных процессов в тимусе, а уменьшение популяции

CD4⁺-клеток свидетельствует о высоком цитолитическом действии ВИЧ на эти клетки [1]. Так как установлено что ВИЧ поражает CD4⁺ – Т-лимфоциты и количество этих клеток у ВИЧ-инфицированных детей уменьшается по мере развития болезни [5].

Данные изменения в мезентериальных лимфатических узлах привели к срыву адаптационно-компенсаторных механизмов клеточного звена иммунной системы организма и как следствие к снижению защитной функции [7].

Проведений кореляційний аналіз дозволив виявити характер взаємодії між щільністю тимоцитів в мозговому речовині тимуса і паракортикальною зоною мезентеріальних лімфатических вузлів. В групі плодів і новонароджених від ВІС-інфіцирваних матерей з простою дисплазією тимуса виявлена середня позитивна взаємозв'язь ($r=0,57$ $p<0,05$), по-видимому, обумовлена активацією компенсаторних механізмів імунної системи. Слабка позитивна взаємозв'язь спостерігається в групі плодів і новонароджених з дисплазією і атрофією тимуса ($r=0,33$ $p<0,05$). Це може бути пов'язано з посиленням процесу міграції зрілих Т-лімфоцитів з мозгового речовини тимуса в паракортикальну зону мезентеріальних лімфатических вузлів.

В групі плодів і новонароджених від ВІС-інфіцирваних матерей з гіперплазією тимуса взаємозв'язь між щільністю тимоцитів в мозговому речовині тимуса і паракортикальною зоною не виявлено, в силу дискоординації компенсаторно-приспособительних механізмів імунної системи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волошин Н.А., Карзов М.В., Григорьева Е.А. // Таврич. мед.-биол. вестник. - 2002. - Т. 5. - № 3. - С. 43-46.
2. Котова Н.В. // Перинатология и педиатрия. - 2007. - № 1 (29). - С. 24-28.
3. Лапач С.К., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. - К.: МОРИОН. - 2001. - 408 с.
4. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. -М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА. - 2000. - 256 с.
5. Труфакин В. А., Шурлыгина А. В., Робинсон В. М. // Морфология. - 2005. - Т.128. - №4. - С. 20-23.
6. Хлыстова З.С. // Иммунология. - 2002. - № 2. - С. 80-83.
7. Цинзерлинг В.А., Красногорская О.Л., Васильева М.В. // Архив патологии. - 2005. - № 5. - С. 48-51.
8. Ahmad N. // Crit. Rev. Clin. Lab. - 2005. Sci. - V. 42. - P. 1-34.
9. Boursalian, T.E., Golob J., Soper D.M. // Nat. Immunol. 2004. - V. 5. - P. 418-425.
10. Matloubian M., Cinamon G. // Nature. - 2004. - V. 427. - P. 355-360.

ВЫВОДЫ

1. Под влиянием материнской ВІС-инфекции в мезентеріальних лімфатических вузлах развивается морфологическая картина, коррелирующая с изменениями в тимусах этих детей.
2. У плодов, новонароджених від матерей ВІС-інфіцирваних спостерігаються виражені порушення з боку Т-клеточного звена імунітета, проявляючись дефіцитом всіх форм Т-лімфоцитів і менш виражене угнетення гуморального звена імунітета.
3. Незважаючи на морфологические признаки незначительного усиления функциональной активности в мезентеріальних лімфатических вузлах при гіперплазії тимуса, ступінь зростання активності реакції імунної системи оказалась недостаточной для обеспечения иммунного гомеостаза.

Перспективою дальніших досліджень є виявлення морфологических особенностей мезентеріальних лімфатических вузлів у умерших дітей старшого віку від ВІС-інфіцирваних матерей.

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МЕЗЕНТЕРІАЛЬНИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ ПЛОДІВ ТА НОВОНАРОДЖЕНИХ ВІД ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ МАТЕРІВ

І.В. Сорокіна¹, С.О. Шерстюк²

¹Харківський державний медичний університет, Україна

²Харківський Національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

РЕЗЮМЕ

З метою виявлення морфологічних особливостей мезентеріальних лімфатических вузлів у плодів та новонароджених від ВІЛ-інфікованих матерів, був вивчений лімфоїдний компонент органу з використанням морфологічних, імуногістохімічних та морфометрических методів. Виявлені морфологічні ознаки значного порушення функціональної активності Т-лімфоцитів та в меншій ступені пригнічення популяції В-лімфоцитів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ВІЛ-інфекція, мезентеріальні лімфатичні вузли, лімфоцити

MORPHOLOGICAL PROPERTIES MESENTERIAL GLAND

OF FETUS AND NEWBORNS FROM HIV-INFECTED

I.V. Sorokina¹, S.A. Sherstiuk²

¹Kharkiv State Medical University, Kharkiv, Ukraine

²V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

SUMMARY

With the purpose of determination morphological properties mesenterial gland of fetus and newborns from HIV-infected, lymphoid component of organ was investigated with using morphological and morphometric methods. Was found morphological signs significant changes functional activity of T-lymphocytes and in less degree depression population of of B-lymphocytes.

KEY WORDS: HIV-infection, mesenterial gland, lymphocytes

УДК: 575.224.46

ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАГЕННОЙ И МОДИФИЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Н.Г. Стрижельчик

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

РЕЗЮМЕ

Исследовали потенциальную мутагенную и модифицирующую активность биологически активных веществ амниоцена и его аналога, полученных из амниотической ткани человека и обладающих противовоспалительными и ранозаживляющими свойствами. Тестирование проводили на млекопитающих в системе *in vivo*. Установлено, что при подкожном введении изучаемые вещества в дозах, в 100 раз превышающих суточную (для человека), не индуцируют повышения уровня хромосомных aberrаций в клетках костного мозга и доминантных летальных мутаций в половых клетках мышей. Не установлено комутагенной активности препаратов в условиях химически индуцированного мутагенеза. Полученные результаты обсуждаются в отношении возможности использования изучаемых веществ в медицинской практике.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: индуцированный мутагенез, мутагенная активность, биологически активные вещества, хромосомные aberrации, доминантные летальные мутации

На возможность увеличения числа людей с тяжелыми наследственными болезнями и пороками развития в следствии мутагенности факторов окружающей среды указывают многие авторы [1]. Настораживающим является то, что за четверть века в стране удвоилась частота появления врожденных наследственных дефектов развития у детей. Детская смертность в 5 раз превышает показатели развитых стран. Частота заболеваемости раком возросла в 5 раз [2]. Реальная опасность отдаленных патогенетических последствий индуцированного мутагенеза для человека привела к необходимости развития исследований, направленных на выявление и устранение мутагенов из среды обитания [3, 4].

В настоящее время на различных тест-объектах установлена мутагенная активность большого количества лекарственных препаратов [5, 6]. В связи с этим широкое распространение получили биологически активные вещества, полученные из тканей животного происхождения. Такие лекарственные препараты обладают высокой биологической

активностью. Одним из достоинств этих препаратов является то, что они, как правило, не вызывают побочных эффектов. Появляется необходимость комплексной оценки влияния этих веществ на основные этапы мутагенеза/канцерогенеза: метаболизм, образование аддуктов ДНК-мутаген, репарация повреждений ДНК, экспрессия повреждений и др. [7, 8].

Большое значение при оценке мутагенности лекарственных препаратов имеет выбор тест-объектов, чувствительность которых определяется характером метаболической активации, обусловленной видовыми, тканевыми и функциональными возможностями [9, 10].

Целью данной работы являлось изучение в тестах на млекопитающих потенциальной мутагенной и модифицирующей активности новых биологически активных веществ амниоцена и его аналога, полученных из амниотической ткани человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оценка генетических воздействий хими-