



О.Г. Куц<sup>1</sup>, О.В. Злобіна<sup>2</sup>

## ЛЕКТИНГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІМФОЇДНОЇ ТКАНИНИ, АСОЦІЙОВАНОЇ З ПЛОДОВОЮ ЧАСТИНОЮ ПЛАЦЕНТИ, НАПРИКІНЦІ ПЕРШОГО ПЕРІОДУ ВАГІТНОСТІ У ЩУРІВ

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет,

<sup>2</sup>Жіноча консультація поліклініки ім. 8 Березня, м. Запоріжжя

**Ключові слова:** плід, плацента, лімфоцит, лектини.

**Ключевые слова:** плод, плацента, лимфоцит, лектины.

**Key words:** fetus, placenta, lymphocyte, lectins.

Вперше описано будову лімфоїдної тканини, асоційованої з плодовою частиною плаценти, наприкінці I періоду вагітності у щурів. Застосовуючи лектингістохімічний метод описано імунологічно незрілі, цитотоксичні лімфоцити, В-лімфоцити і макрофаги, а також їх топографію. В період завершення формування плаценти лімфоїдна тканина, асоційована з нею, представлена неспецифічною ланкою імунітету, до якої належать В<sub>1</sub>-лімфоцити, цитотоксичні лімфоцити, макрофаги.

Впервые описано строение лимфоидной ткани, ассоциированной с плодовой частью плаценты, в конце I периода беременности у крыс. Используя лектингистохимический метод описаны иммунологически незрелые, цитотоксические лимфоциты, В-лимфоциты и макрофаги, а также их топография. В период завершения формирования плаценты лимфоидная ткань, ассоциированная с ней, представлена неспецифическим звеном иммунитета, к которому принадлежат В<sub>1</sub>-лимфоциты, цитотоксические лимфоциты, макрофаги.

The structure of lymphoid tissue of the placenta associated with fetus part at the end of the first period of pregnancy for rats was described. Using a lectin the chemical method immunoimmature is described, cytotoxic lymphocytes, B-lymphocyte and macrophage, and also their topography. In the period of completion of forming of placenta, limfoid tissui is associated with it presented the heterospecific link of immunity to which of В<sub>1</sub>-lymphocytes, cytotoxic lymphocytes, macrophages.

Провідною концепцією імуноморфології є ствердження, що лімфоцит – фактор морфогенезу [1]. На сьогодні існує достатньо фактичного матеріалу, що підтверджує вплив лімфоцитів на процес морфогенезу дефінітивних органів [4]. Також правомірне це ствердження стосовно провізорних органів, зокрема плаценти. Нині найбільш детально досліджено роль лімфоцитів у морфогенезі плаценти протягом третього періоду вагітності, найменше вивчено у період завершення формування плаценти – у період раннього фетального періоду, чи ранньої плаценти – з 9 до 12 тижня у людини (3 період морфогенезу плаценти людини I триместру) і, відповідно, 11 доба вагітності у щурів [2]. Тому у якості експериментальної моделі доцільно вибирати плаценту щурів, оскільки у людини й щурів плацента має однаковий дискоїдальний гемохоріальний тип будови.

Для розуміння морфогенетичної ролі лімфоциту на морфогенез плаценти актуальним є вивчення становлення лімфоїдної тканини, асоційованої з плідною частиною плаценти; дослідження наявності і топографії різних субпопуляцій лімфоцитів у плаценті, макрофагів і антигенпрезентуючих клітин. На сьогодні дослідження якісного і кількісного складу лімфоцитів наприкінці ембріонального періоду і початку фетального періоду проводили, переважно, в залишках жовткового мішка, в регіоні аорто-сплянхоплеври, частково в плаценті, в умбілікальній артерії, в лівері плоду за рахунок методів імуногістохімії та проточної цитометрії [12].

Не дослідженим є питання наявності різних субпопуляцій лімфоцитів, макрофагів і антигенпрезентуючих клітин та

їх топографії методом лектинової гістохімії в плаценті на момент її формування.

### МЕТА РОБОТИ

Вивчити будову лімфоїдної тканини, асоційованої з плодовою частиною плаценти, наприкінці I періоду вагітності у щурів із застосуванням лектингістохімічного методу дослідження.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для встановлення закономірностей морфогенезу плаценти і лімфоїдної тканини, асоційованої з плацентою, у першому періоду вагітності (11 доба) проведено анатомо-експериментальне дослідження на білих лабораторних щурах лінії Вістар. Об'єктом дослідження стали вагітні матки (n=14) від 5 самок. Датований строк вагітності визначали методом вагінальних мазків. Матеріал фіксували в розчині Буена.

Для оглядової мікроскопії проводили фарбування гематоксилином і еозином. Для виявлення лімфоцитів, що фенотипічно розрізняються за вуглеводними залишками, проводили дослідження із застосуванням лектинів арахісу, сої та слимака, використовуючи стандартні набори «Лектинтест» (м. Львів). Для виявлення імунологічно незрілих лімфоцитів обробку гістологічних зрізів проводили кон'югатом лектин арахісу – пероксидаза хрому (PNA-HRP) [10]; для виявлення цитотоксичних лімфоцитів – кон'югатом лектин слимака – пероксидаза хрому (HLP-HRP) [6]; для виявлення стовбурових клітин і В-лімфоцитів – кон'югатом лектин сої – пероксидаза хрому (SBA-HRP) [8,11]. Для ідентифікації макрофагів



використовували кон'югат лектину софори – пероксидази хрону (SBA-HRP) [7].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Досліджено особливості будови лімфоїдної тканини, асоційованої з плідною частиною плаценти у щурів, на 11 добу вагітності, що відповідає періоду завершення морфогенезу плаценти, визначальним фактором якого є виникнення синцитіотрофобласту і завершення васкулогенезу лабіринтної частини плаценти, що призводить до утворення функціональної системи мати-плацента-плід.

Лімфоїдна тканина, асоційована з плідною частиною плаценти, представлена лімфоцитами і макрофагами, дифузно розташованими в ентодермальному синусі Дюваля, утвореного взаємодією парієтального та вісцерального листків жовткового мішка, що зберігається протягом всього періоду вагітності; дифузно розташованими лімфоцитами в хоріоаллантаїсній мезенхімі плаценти, що має вигляд зони від 10 до 15 мкм завтовшки, що розташована між амніотичною порожниною і лабіринтною зоною плаценти; дифузно локалізованими лімфоцитами і скупченнями лімфоцитів різного діаметра в товщі мезенхіальної тканини навколо умбілікальних судин – місця виходу пупкового канатика; дифузно розташованими лімфоцитами в лабіринтній частині плаценти – в товщі сполучної тканини лабіринтної частини плаценти, серед клітин цито- і синцитотрофобласту, в просвіті плідних судин і серед клітин функціональної зони – спонгіотрофобласту і великих гігантських трофобластичних клітин.

PNA<sup>+</sup>-імунологічно незрілі лімфоцити, правильної круглої форми, діаметром 10–12 мкм, темно-коричневого кольору, виявляються в ентодермальному синусі Дюваля, серед клітин залишку Рейхертової мембрани, в сполучній тканині залишку аллантаїса, в товщі лабіринтного відділу плаценти, серед клітин синцитіо- і цитотрофобласту, в просвітах плідних судин.

HLP<sup>+</sup>-цитотоксичні лімфоцити діаметром до 10–12 мкм, діаметр ядра – до 8 мкм. За допомогою кон'югату лектин слимака – пероксидаза хрону (HLP-HRP) в цитоплазмі HLP<sup>+</sup>-цитотоксичних лімфоцитів виявляються коричневі гранули. У полі зору цитоплазми одного лімфоциту до 6 гранул діаметром до 3 мкм. HLP<sup>+</sup>-цитотоксичні лімфоцити локалізуються переважно навколо судин пупкового канатика і в мезенхімі хоріо-аллантаїсної частини плаценти.

SBA<sup>+</sup>-стовбурові клітини виявляються, переважно, в ентодермальному синусі Дюваля, в хоріоаллантаїсній мезенхімі плаценти, навколо умбілікальних судин, і меншою мірою, в лабіринтній частині плаценти. Клітини мають правильну круглу форму, діаметром 20–22 мкм, ядро діаметром до 18 мкм. Часточки 3,3-диметилбензидину нашаровуються на деконденсованому хроматині, по каріо- і плазмолемі. Взагалі клітина має прозору сітчасто-ніжну структуру.

Топографія SBA<sup>+</sup>-лімфоцитів така ж, як у SBA<sup>+</sup>-стовбурових клітин. SBA<sup>+</sup>-лімфоцити діаметром 12–15 мкм. Ядро розташовується центрально або трохи ексцентрично. Нашарувань часточок 3,3-диметилбензидину достатньо ба-

гато як на поверхні ядра, так і в цитоплазмі, тому ядра мають темно-коричневий колір, а цитоплазма – коричневий.

Макрофаги, що несуть рецептори до кон'югату лектин софори – пероксидаза хрону (HLP-HRP), розташовані у всіх відділах сформованої плаценти, але візуально більша їх кількість спостерігається в товщі функціональної зони плаценти, на межі плідної і материнської частини плаценти і в товщі сполучної тканини лабіринтної частини плаценти.

Відомо, що за допомогою кон'югатів лектинів софори і арахісу з пероксидазою хрону можна виявляти професійні антигенпрезентуючі клітини, але наприкінці першого періоду вагітності в плідній частині плаценти не виявлено клітини з типовою морфологією активованих дендритних клітин як наприкінці вагітності, оскільки при завершенні формування плаценти не виникає необхідності для генерування спеціалізованої імунної відповіді, інакше буде виняткова підтримка імунологічної толерантності в системі мати-плацента-плід.

Вперше встановлено, що в плідній частині ранньої плаценти наявні PNA<sup>+</sup>-імунологічно незрілі лімфоцити. Відомо, що клітинами трофобласту секретується розчинний тимічний стромальний лимфопоетин [13]. Цей гормон має впливати на дозрівання PNA<sup>+</sup>-імунологічно незрілих T-лімфоцитів, що мають позазародкове походження і наприкінці першого періоду вагітності походять із герменативних зародків залишків парієтального та вісцерального листків жовткового мішка, з мезенхіми пупкового канатика. Виконуючи функції імунного органу, плацента, вірогідно, генерує свою популяцію лімфоцитів, по-перше, для контролю над процесом морфогенезу, по-друге, для захисту від чужорідних антигенів.

Вперше досліджено, що в ранній плаценті є SBA<sup>+</sup>-стовбурові клітини, які є попередниками V<sub>1</sub>-лімфоцитів, що виникають на ранніх стадіях ембріогенезу, походять з аорто-гонадо-мезонефросного регіону. Отримані дані відповідають даним інших авторів [5]. Також виявлено SBA<sup>+</sup>-лімфоцити, що ідентифікуються як B-лімфоцити, і на даному етапі морфогенезу саме популяція V<sub>1</sub>-лімфоцитів, що еволюційно виникає раніше популяції V<sub>2</sub>-лімфоцитів, забезпечує імунний захист за рахунок нормальних антитіл. Загальновідомо, що у щурів домінує клітинна ланка імунітету, але, як свідчать отримані факти, функціонує також неспецифічна гуморальна ланка імунітету.

Вперше описано HLP<sup>+</sup>-цитотоксичні лімфоцити в ранній плаценті. Вірогідніше, це NK-клітини, і можливо,  $\gamma\lambda$ -T-лімфоцити, що одними з перших з'являються в кров'яних острівцях жовткового мішка [9]. Оскільки плацента – орган з високою проліферативною активністю, має бути контролююча система у формі цитотоксичних клітин, яким притаманна функція імунного контролю.

Підсумовуючи отримані факти встановлено, що лімфоїдна тканина, асоційована з плідною частиною плаценти, в період завершення її формування представлена неспецифічною ланкою імунітету, до якої належать V<sub>1</sub>-лімфоцити, цитотоксичні лімфоцити, макрофаги. Функціонування цих популяцій клітин спирається на розпізнавання паттерн-



вуглеводних рецепторів. Ця система є більш ранньою системою розпізнавання, ніж білкова. Вірогідно, це провідний еволюційний механізм жорсткого контролю за наслідуванням генетичного матеріалу у поколіннях, без допуску помилкового генетичного збою, що неприпустимий для багатоклітинного організму й найвірогідніше, він виник для збереження виду в процесі уникнення міжвидового схрещення, що полягло у принцип контролю «своє – чужорідне».

#### ВИСНОВКИ

Наприкінці першого періоду вагітності в плаценті реалізується вроджений імунітет, що є пріоритетною формою контролю пренатального розвитку за фізіологічних умов, разом з тим, вразливість плоду і новонародженого до майже всіх мікроорганізмів бактеріального та вірусного походження залишається фактично абсолютною, що підтверджує відсутність адаптивної імунної відповіді на рівні плаценти. Отже, відсутність набутого імунітету протягом вагітності в плаценті забезпечує вторинні вагітності, але не застраховує від дії антигенів чужорідного походження на ембріон і плід. Тому репродуктивні втрати найвищі в I триместрі вагітності. Найсуттєвіша рекомендація для пролонгації вагітності – мінімізація контактів з антигенами, наявність прегради імунітету.

Еволюційно закріпився контроль не лише над процесом зародження і розвитком життя багатоклітинного організму, але й його якості та подовження за рахунок спеціалізації імунологічного контролю на дію антигенів різного походження, що передбачило формування адаптивного імунітету, який реалізується на рівні плаценти в пізніших періодах пренатального періоду [3].

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Волошин М.А. Лімфоцит – фактор морфогенеза / М.А. Волошин // Запороз. мед. журн. – 2005. – №3. – С. 122.
2. Волошин М.А. Лімфоїдна тканина, асоційована з плацентою / Волошин М.А., Куц О.Г. // Таврический медико-биологический вестник – 2008. – №3, Ч. 3. – С. 24–27.
3. 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.
4. Внутриутробное введение антигенов – модель для изучения процессов морфогенеза лимфоидных органов / Н.А. Волошин, М.В. Карзов, М.Б. Вовченко [и др.] // Таврич. медико-биол. вестн. – 2002. – №3. – С. 43–46.
5. Евстранова И.В. В-1-лимфоциты: физиология, функции, популяционная гетерогенность / И.В. Евстранова // Иммунология. – 2004. – №1. – С. 46–56.
6. New Surface Marker on Mouse Natural Killer Cells: Receptors for Helix pomatia A Hemagglutinin / O. Haller, M. Gildlund, U. Hellstrom [et al.] // Eur. J. Immunol. – 1978. – Vol. 8. – P. 765–771.
7. Пащенко М.В. Основные свойства дендритных клеток / М.В. Пащенко, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2001. – №1. – С. 7–16.
8. Пол У. Иммунология: в 3 т. / У. Пол; пер. с англ. – М.: Мир, 1987. – Т.1. – 476 с.
9. Чекнеев С.Б. Дифференцировка естественных киллеров с позиций стадиоспецифической регуляции / С.Б. Чекнеев // Иммунология. – 1998. – №5. – С. 22–30.
10. Randal L. Phenotypic and functional characterization of cotton rat (*Sigmodon hispidus*) splenocytes separated on nylon wool / L. Randal, D. Lachmsler, R. Lachmsler // Proceedings of the Oklahoma academy of science. – 1995. – Vol. 75. – P. 31–37.
11. Reisner Y. Separation of antibody helper and antibody suppressor human T cells by using soybean agglutinin / Y. Reisner, J. W. Chiao, N. Sharon // J. Natl. Acad. Sci USA. – 1980. – Vol. 77, №11. – P. 6778–6782.
12. The human embryo, but not its yolk sac, generates lymphomyeloid stem cells: mapping multipotent hematopoietic cell fate in intraembryonic mesoder / M. Tavian, C. Robin, L. Coulombe [et al.] // Immunity. – 2001. – Vol. 15. – P. 487–495.
13. Thymic stromal lymphopoietin from trophoblasts induces dendritic cell-mediated regulatory TH2 bias in the decidua during early gestation in humans / Pei-Fen Guo, Mei-Rong Du, Hai-Xia Wu [et al.] // Blood. – 2010. – Vol. 116 – P. 2061–2069.

#### Відомості про авторів:

Куц О.Г., д. біол. н., доцент каф. мікробіології, вірусології, імунології ЗДМУ.  
Злобіна О.В., акушер-гінеколог жіночої консультації поліклініки ім. 8 Березня.

#### Адреса для листування:

Злобіна Оксана Вікторівна, м. Запоріжжя, вул. Чумаченка, 21.  
Тел.: (0612) 95 26 52.

Поступила в редакцію 23.03.2012 г.