

029271

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
МИНСКИЙ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

УДК 576.8.098.345.8:611-019

ТАРАСЮК ИГОРЬ ВАСИЛЬЕВИЧ

*МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ
ВВЕДЕНИИ ПИРОГЕНАЛА В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ*

14.00.15 - патологическая анатомия
14.00.16 - патологическая физиология

Автореферат
*диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук*

Минск - 1996

Работа выполнена в Центральной научно-исследовательской лаборатории Гродненского государственного института



0000236587

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор Ю. И. Бандажевский,
доктор биологических наук, профессор Я. Р. Мадок.

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, с.н.с. В. А. Сятковский;
кандидат медицинских наук, доцент А. И. Герасимович.

Оппонирующая организация: Научно-исследовательский институт врожденных и наследственных заболеваний МЗ РБ.

Защита диссертации состоится "12" марта 1996 г. в 14.00 час. на заседании Совета по защите диссертаций Д 03.18.03 в Минском ордена Трудового Красного Знамени государственном медицинском институте (220116, Минск, пр. Дзержинского, 83).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Минского медицинского института.

Автореферат разослан "9" февраля 1996 г.

Ученый секретарь Совета,
доктор медицинских наук,
профессор

Г. И. Кравцова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Проблема профилактики детских болезней, в том числе и инфекционной природы, актуальна всегда. В данном аспекте важнейшее значение имеет изучение возможностей наиболее полной реализации всех защитных механизмов ребенка (иммунитета, неспецифической резистентности), а также эффективного устранения причин и факторов, приводящих к развитию иммунодефицитного состояния в постнатальном периоде. Увеличение в последнее время числа случаев иммунной недостаточности у детей связано со значительным загрязнением окружающей среды (Е.Л. Крутских, Н.Т. Попова, 1993), широким применением лекарственных средств (М.А. Долгова, 1988), а также высокой заболеваемостью матерей в период беременности (С.И. Зудикова, 1992; М.А. Шаповалова, 1992; И.Д. Усов и соавт., 1994; О.Г. Фролова и соавт., 1994; Ю.И. Цвелев и соавт., 1995). В этом плане значительную роль играют и микробные агенты (А.В. Цинзерлинг, Н.П. Шабалов, 1992; Б.Л. Гуртовой и соавт., 1994; F. Chiodo et al., 1993). Перинатальная гибель вследствие внутриутробной бактериальной инфекции в последнее время составляет от 27 % до 38 % (Т.М. Бутко, В.П. Кислицин, 1989; А.В. Цинзерлинг, Н.П. Шабалов, 1992). В раннем неонатальном периоде почти у 20 % новорожденных регистрируются различные инфекционно-воспалительные заболевания (Л.Н. Овечко-Филиппова и соавт., 1991; A. Campelli et al., 1991). Этиология последних обусловлена инфекционными процессами у матерей и указывает на возможность заражения плода через околоплодные воды, в меньшей степени, трансплацентарно (С.А. Самгуров и соавт., 1993; Ю.И. Барашнев и соавт., 1994; Б.Л. Гуртовой и соавт., 1994). Значительное место в этом отводится и условно патогенным грамотрицательным микроорганизмам, среди которых лидирующее место занимает кишечная палочка (Л.Н. Овечко-Филиппова и соавт., 1991; Б.Л. Гуртовой и соавт., 1994; В.М. Сидельникова и соавт., 1994). Очевидно, что в развитии патологических процессов у потомства существенное значение имеют и эндотоксины грамотрицательных бактерий, в состав которых входит липополисахаридная субстанция. Одним из наиболее известных представителей бактериальных липополисахаридов является пирогенал, широко применяемый в клинике как иммуномодулятор. Однако, особенности становления

иммунной системы потомства в постнатальный период при воздействии бактериальных липополисахаридов, в частности, пирогенала, на систему "мать-плод" не изучены.

Связь с крупными научными программами. Исследование выполнено в рамках темы: "Морфофункциональные аспекты действия бактериальных агентов на процессы антенатального и постнатального развития" (N гос. регистрации 01.85.0073671), входящей в план республиканской программы "Фундаментальные науки - для медицины".

Цель и задачи исследования. Цель - выявить возможные морфофункциональные нарушения в иммунной системе потомства белых крыс в постнатальный период при введении бактериального липополисахарида пирогенала в различные сроки беременности.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- 1) изучить морфофункциональное становление тимуса и селезенки у 20- и 45-суточного потомства самок белых крыс, которым в различные сроки беременности вводили пирогенал;
- 2) определить в этих условиях изменения иммунологических показателей периферической крови потомства;
- 3) дать оценку ответной реакции иммунной системы у 45-суточного потомства на введение Т-зависимого и Т-независимого антигенов.

Научная новизна полученных результатов. Впервые показано, что при воздействии пирогенала на систему "мать-плод" возникают изменения в иммунокомпетентных органах потомства на ранних этапах постнатального развития.

Определены закономерности этих изменений в центральном (тимус) и периферическом (селезенка) органах иммунной системы, а также изменений иммунологических показателей периферической крови.

Обнаружена неадекватная реакция на Т-независимый антиген у потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала в период беременности.

Практическая значимость полученных результатов. Экспериментально доказано, что пирогенал, как составная часть эндотоксина грамотрицательных бактерий, при введении матери в период беременности, вызывает задержку формирования тимуса и селезенки, снижение иммунологических показателей крови у потомства на ранних этапах постнатального развития.

Полученная экспериментальная модель может быть использована для оценки эффективности методов коррекции патологии иммунной системы.

Показана необходимость изучения иммунного статуса у детей неонатального и грудного возраста, матери которых в период беременности перенесли грамотрицательную инфекцию, для своевременной диагностики возможного развития иммунодефицитных состояний.

Основное положение, выносимое на защиту. Бактериальный липополисахарид пирогенал, вводимый матери в период беременности, вызывает у потомства в постнатальном периоде задержку развития тимуса и селезенки, снижает иммунологические показатели периферической крови, а также обуславливает неадекватную реакцию на Т-независимый антиген.

Личный вклад соискателя. Экспериментальная и методическая часть работы выполнены лично диссертантом. Данные, полученные при морфологических, морфометрических, гистохимических и иммунологических исследованиях, обрабатывались соискателем самостоятельно. Обсуждение и анализ результатов проводился автором диссертации с учетом корректив, вносимых научными руководителями.

Апробация результатов диссертации. Фрагменты работы докладывались на заседаниях Гродненской областной конференции молодых ученых и специалистов "Наука - практике" (1990-1993), на II съезде анатомов, гистологов и эмбриологов Белоруссии (1991), на II пленуме общества иммунологов и аллергологов Беларуси (1993). Внутренняя апробация проходила на совместном заседании ЦНИЛ и кафедр Гродненского медицинского института (протокол N 39 от 20 июня 1995 г).

Опубликованность результатов. По данной теме опубликовано 12 печатных работ, из них в центральной печати - 8, принята к печати 1.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации стандартна и состоит из "Введения", "Общей характеристики работы", глав I-IV ("Обзор литературы", "Материал и методы исследования", "Результаты собственных исследований", "Анализ и обобщение результатов исследования"), "Выводы" и "Список использованных источников". Работа изложена на 158 страницах, включая 32 таблицы и 17 рисунков. Список использованных источников состоит из 303 источников, из них 101 зарубежный.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовано 116 самок с массой тела 200-250 г и 275 крысят обоего пола 20- и 45-суточного возраста (табл. 1). Первым днем беременности считали день обнаружения сперматозоидов во влагалищных мазках. На 11-й, 14-й или 18-й день беременности в 12 часов дня однократно внутримышечно самкам вводили пирогенал в дозе 100-150 мкг/кг массы тела. Сроки введения пирогенала избраны с учетом основных этапов развития тимуса и селезенки (М.А. Долгова и соавт., 1982; Т.Д. Батюто, Г.Н. Титова, 1989; И.А. Стельмак, 1990). Животным контрольной группы в аналогичные сроки беременности внутримышечно вводили эквивалентное количество изотонического раствора хлорида натрия. В течение эксперимента животных содержали в индивидуальных клетках на стандартном рационе вивария. Родившихся крысят оставляли с самками до конца сосункового периода (20 дней после рождения) и наблюдали за развитием до 45-суточного возраста. Выведение из опыта осуществляли на 20-е и 45-е сутки в условиях эфирного наркоза путем декапитации. Периферическую кровь забирали для иммунологических исследований. После определения относительной массы тимуса и селезенки одну часть иммунокомпетентных органов подвергали фиксации в жидкости Карнуа для морфологических исследований, а другую после замораживания в жидком азоте использовали для гистохимических исследований.

Парафиновые срезы тимуса и селезенки (5-7 мкм) окрашивали гематоксилином-эозином, азур II-эозином. Количественный морфометрический анализ производили с помощью вставленной в

Таблица 1

КОЛИЧЕСТВО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ,
ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В ПРОВЕДЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Группы животных в зависимости от сроков введения пирогенала в период беременности	Самки	Потомство самок			
				Нагрузка антигенами	
		20-е сутки	45-е сутки	T-независимым (пирогенал)	T-зависимым (эритроциты барана)
Контроль	46	31	23	13	12
11-е сутки	32	29	23	13	13
14-е сутки	19	30	19	7	6
18-е сутки	19	25	18	6	7
Итого:	116	115	83	39	38

окуляр стандартной сетки на различных увеличениях светового микроскопа. В тимусе определяли количество долек в поле зрения, среднюю площадь сечения дольки, а в ней - площадь сечения коркового и мозгового вещества.

В последних производили подсчет численной плотности тимоцитов на условную единицу площади (242 мкм², ок. 7 х об. 40), а также количества телец Гассалья (ок. 7 х об. 3,5). В селезенке определяли площадь сечения белой пульпы в поле зрения (ок. 7 х об. 8), среднюю площадь сечения вторичных узелков и их зон - герминативного центра, мантии, периартериальной и маргинальной зон. Помимо того, во всех указанных структурных зонах тимуса и селезенки проводили цитологический анализ с определением относительного количества больших, средних и малых лимфоцитов, макрофагов, нейтрофилов, плазмоцитов и клеток стромы. Определяли митотический индекс лимфоцитов.

На криостатных срезах тимуса и селезенки (10 мкм) гистохимически определяли активность кислой (по G. Gomori, 1950) и щелочной фосфатаз (по M.S. Burstone, 1962) - показателей активности гидролаз; малатдегидрогеназы (по Z. Lojda, 1965) -

показателя активности цикла Кребса; НАДН-дегидрогеназы (по N. Nachlas et al., 1958) - показателя активности митохондриальных процессов. Все гистохимические реакции на ферменты сопровождались безсубстратными контролями (Э. Пирс, 1962).

Из периферической крови отбирали пробу для определения количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы. Из оставшейся части крови получали суспензию лимфоцитов, в которой Т-лимфоциты определяли методом "комплементзависимой цитотоксичности" по K. Mittal et al. (1968) в модификации A.W. Koestner et al. (1982), а В-лимфоциты - методом розеткообразования (A.W. Koestner et al., 1982). В сыворотке крови определяли титры нормальных гемагглютининов и гемолизинов, комплемента по Н.В. Васильеву и соавт. (1972). Электрофорез белков сыворотки крови проводили на предметных стеклах в агаровом геле (Е.А. Кэбот, М.М. Мейер, 1968).

С целью выявления особенностей реакции иммунной системы потомства на чужеродные антигены одну часть крысят контрольной и подопытных групп подвергли иммунизации Т-зависимым (двухкратные внутрибрюшинные инъекции по 1,0 мл 10 % взвеси эритроцитов барана на 35-е и 40-е сутки после рождения), а вторую - Т-независимым антигеном (двухкратные внутримышечные инъекции пирогенала в дозе 100-150 мкг/кг в аналогичные сроки) (см. табл. 1). Выведение из опыта животных производили на 5-е сутки после повторной иммунизации с проведением комплекса вышеуказанных исследований иммунокомпетентных органов и периферической крови.

Полученный цифровой материал статистически обработан на ПЭВМ с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ХАРАКТЕРИСТИКА СТАНОВЛЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У 20-СУТОЧНОГО ПОТОМСТВА САМОК КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ПИРОГЕНАЛ В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ БЕРЕМЕННОСТИ.

Проведенными исследованиями установлено, что у 20-суточного потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала на 11-е сутки беременности, отмечалось уменьшение относительной массы тимуса и площади его долек при увеличении в субкапсуляр-

ном слое коркового вещества процентного содержания средних и больших лимфоцитов, их митотического индекса. Численная плотность тимоцитов в корковом и мозговом веществе снижена. В последнем наблюдалось существенное увеличение относительного количества макрофагов с повышенной активностью кислой фосфатазы. Клетки, образующие гемотимический барьер вокруг капилляров коркового вещества, располагались рыхло и неупорядоченно, а в некоторых случаях вообще отсутствовали. По данным литературы такая гистологическая картина характерна для тимуса нормально развивающихся крысят более раннего возраста (М.И. Пекарский, Е.В. Ишин, 1981; К.С. Кабак и соавт., 1983), что наглядно указывает на задержку развития и формирования структуры тимуса потомства при воздействии пирогенала на материнский организм на 11-е сутки беременности. Кроме того, в мозговом веществе увеличилось количество телец Гассала с $2,8 \pm 1,2$ до $6,5 \pm 1,3$ ($p < 0,05$), что свидетельствует об изменениях в клетках ретикулоэпителиальной стромы.

При введении пирогенала на 14-е сутки беременности изменения в тимусе крысят были аналогичными, но менее выраженными, а уменьшение численной плотности тимоцитов в корковом веществе носило очаговый характер. Введение самкам пирогенала на 18-е сутки беременности вызвало в тимусе потомства самые незначительные по сравнению с предыдущими подопытными группами изменения, особенностью которых было достоверное увеличение процентного содержания малых лимфоцитов в корковом веществе долек.

В селезенке крысят всех подопытных групп на фоне увеличения ее относительной массы отмечалась тенденция к уменьшению площади сечения белой пульпы. Сниженным было и процентное содержание малых лимфоцитов в периартериальной зоне вторичных узелков, а в тяжах красной пульпы, наоборот, увеличено.

У потомства самок, которым вводили пирогенал на 11-е сутки беременности, белая пульпа селезенки была представлена лишь периартериальными лимфоидными муфтами и единичными первичными узелками. В селезенке у потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала на 14-е сутки, изменения были менее выраженными: в белой пульпе отмечались единичные вторичные узелки, что обусловлено, надо полагать, более поздним сроком введения

пирогенала, когда закладка тимуса и селезенки плода уже произошли (М.А. Долгова и соавт., 1982).

В селезенке у потомства самок, которым вводили пирогенал на 18-е сутки беременности, первичные и особенно вторичные узелки встречались часто и отличались более крупными размерами по сравнению с контролем. Тем не менее, в периартериальной и мантийной зонах последних отмечалось уменьшение относительного количества малых лимфоцитов, а в маргинальной зоне - плазмоцитов, хотя именно через нее идет заселение В-лимфоцитов с последующей трансформацией в плазматические клетки (Т.С. Смирнова, О.Д. Ягмуров, 1993; G. Kraal, 1992; Sh. Sasou, T. Sugai, 1992). Эти факты указывают, вероятно, на некоторую "неполноценность" или "дефектность" с иммунологической точки зрения ускоренного развития белой пульпы селезенки плода при введении самке ЛПС на 18-е сутки беременности.

В периферической крови у 20-суточного потомства самок всех опытных групп зарегистрировано достоверное увеличение абсолютного и относительного количества В-лимфоцитов, связанное с недостаточным (после введения ЛПС на 11-е и 14-е сутки) или ускоренным, но "дефектным" (после введения ЛПС на 18-е сутки) развитием периферических иммунокомпетентных органов, в частности, селезенки, куда должны заселиться предшественники плазматических клеток. Еще одно подтверждение этого предположения - общее для всех групп уменьшение процентного содержания сывороточных гамма-глобулинов.

Особенностью крысят, матери которых подверглись воздействию пирогенала на 11-е сутки беременности, была тенденция к снижению по сравнению с контролем общего числа лимфоцитов и их Т-форм в периферической крови, связанная с отставанием в развитии тимуса.

В периферической крови потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала на 14-е сутки, изменения были менее выражены и связаны с меньшей степенью нарушений в тимусе и селезенке. Надо полагать, что увеличение относительного и абсолютного количества Т-лимфоцитов вызвано их миграцией из тимуса с соответствующим уменьшением плотности тимоцитов в корковом и мозговом веществе. Последнее является, очевидно, ответной реакцией на введение самке пирогенала на 14-е сутки беременнос-

ти, когда в тимусе плода уже есть различия между лимфоцитами по поверхностным антигенам и появляются зрелые иммунокомпетентные клетки (Райцина С.С., Калинина И.И., 1979; З.С. Хлыстова и соавт., 1979; И.А. Стельмах, 1990).

Практически аналогичная ситуация наблюдалась в периферической крови крысят, матери которых подверглись воздействию пирогенала на 18-е сутки беременности. Достоверное увеличение относительного количества Т-лимфоцитов, в то время как абсолютное их количество имело лишь тенденцию к увеличению, обусловлено, как и в предыдущей группе, ускоренной дифференцировкой лимфоцитов в тимусе и усиленной миграцией Т-клеток в кровь. Реакция тимуса в ответ на воздействие ЛПС на систему "мать-плод" на 18-е сутки беременности вполне закономерна, так как обеспечена его иммунологической зрелостью в этот период (Райцина С.С., Калинина И.И., 1979; З.С. Хлыстова и соавт., 1979; И.А. Стельмах, 1990).

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У 45-СУТОЧНОГО ПОТОМСТВА САМОК КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ПИРОГЕНАЛ В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ БЕРЕМЕННОСТИ.

У 45-суточного потомства самок, которым вводили пирогенал на 11-е сутки, показатели относительной массы тимуса и площади его долек по-прежнему ниже контрольных. Повышенная на 20-е сутки митотическая активность лимфоцитов в субкапсулярном слое к 45-м суткам достоверно снижена. В корковом веществе значительно уменьшилось процентное содержание средних лимфоцитов. Гистохимически в цитоплазме лимфоцитов отмечалось снижение активности малатдегидрогеназы, а в макрофагах - увеличение активности кислой фосфатазы. В отдельных участках долек наблюдалась гибель лимфоцитов и лизис их макрофагами, относительное количество которых достоверно возросло ($1,06 \pm 0,16$ % против $0,28 \pm 0,08$ % в контроле, $p < 0,05$). Ретикулоэпителиальные клетки, образующие гемотимический барьер вокруг капилляров коркового вещества, располагались весьма рыхло. Относительная масса тимуса у потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала на 14-е сутки, не отличалась от контроля, а изменения в структуре и клеточной популяции различных зон органа были сходными, но менее выраженными. Подобные изменения выявлены и

в тимусе потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала на 18-е сутки беременности.

В селезенке 45-суточного потомства самок, которым вводили пирогенал на 11-е сутки, наблюдались, в отличие от 20-х суток, уже единичные вторичные узелки, площадь сечения которых не отличалась от таковой в контроле. Однако, относительное количество малых лимфоцитов в мантийной зоне, а плазмоцитов в других зонах вторичных узелков и красной пульпе было сниженным. Аналогичные изменения наблюдались в клеточном составе вторичных узелков селезенки потомства при воздействии пирогенала на 14-е или 18-е сутки беременности, хотя в целом площадь вторичных узелков и некоторых их зон имела тенденцию к увеличению, что свидетельствует о положительных тенденциях в развитии лимфоидной ткани селезенки с возрастом у крысят всех опытных групп.

Несмотря на различия в сроке воздействия пирогенала в период беременности, у 45-суточных крысят во всех опытных группах отмечались сходные изменения иммунологических показателей периферической крови. Достоверное уменьшение процентного содержания Т-клеток обусловлено, вероятно, уменьшением числа лимфоцитов, мигрирующих из тимуса, где имело место в той или иной степени выраженное отставание его развития и нарушение процессов дифференцировки. Задержка заселения в периферические органы потомства В-лимфоцитов способствовала, по нашему мнению, нарушению процессов их пролиферации и дифференцировки в специализированные в отношении определенных видов антигенов В-лимфоидные клоны. Именно этим, по нашему мнению, можно объяснить уменьшение относительного количества В-лимфоцитов в периферической крови на 45-е сутки, в то время как на 20-й день их было достоверно больше, чем в соответствующем контроле. Процентное содержание гамма-глобулинов, как и на 20-е сутки, было снижено и связано, на наш взгляд, с нарушением процессов дифференцировки В-лимфоцитов в плазмоциты и синтеза иммуноглобулинов (А. Ройт, 1991).

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПОТОМСТВА САМОК, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ПИРОГЕНАЛА В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ БЕРЕМЕННОСТИ, ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ Т-НЕЗАВИСИМОГО

АНТИГЕНА НА 35-Й И 40-Й ДНИ ПОСЛЕ РОЖДЕНИЯ.

После нагрузки Т-независимым антигеном в корковом веществе тимуса 45-суточного потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала на 11-е сутки беременности, отмечалось менее выраженное, чем у контрольных животных, увеличение численной плотности тимоцитов, что обусловлено выявленными в данной группе на 20-е сутки нарушениями процессов пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов, а позднее более активной миграцией их в кровь и периферические органы иммунитета. Последнее подтверждается увеличением после нагрузки площади вторичных узлов, особенно их периартериальных зон, в селезенке (Н.А. Волошин, А.Г. Яхница, 1982). При этом достоверное увеличение абсолютного количества В-лимфоцитов в периферической крови и уменьшение данного показателя в контрольной группе указывают на нарушения в процессе дифференцировки этих клеток в плазмочиты: абсолютного количества специфических антител, нейтрализующих вводимый при нагрузке пирогенал, было недостаточно, что привело к увеличению времени циркуляции его в крови и выраженному митогенному эффекту в отношении тех же В-лимфоцитов (Т.К. Кондратьева и соавт., 1987). Кроме того, тенденция к увеличению процентного содержания гамма-глобулинов при значительном уменьшении в контроле также служит веским аргументом в пользу предположения о "дефектности" иммунных белков крови.

После указанной нагрузки у потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала на 14-е сутки беременности, относительная масса тимуса была снижена вдвое, а миграция значительного количества лимфоцитов в мозговое вещество из коркового вызвала опустошение последнего, что известно в литературе как "инверсия тимуса" (М.И. Пекарский, Е.В. Ишин, 1981). Кроме того, часто наблюдались участки с массовой гибелью лимфоцитов и изменениями в клетках ретикулоэпителиальной стромы, что привело к образованию телец Гассала в корковом веществе. В стенке гемокapилляров наблюдалось набухание и десквамация эндотелиоцитов, а ретикулоэпителиальные клетки, образующие гемотимический барьер, располагались весьма рыхло и неупорядоченно. Совокупность этих изменений показывает, что у данного потомства при нагрузке Т-независимым антигеном развивается акцидентальная инволюция тимуса III степени. Очевидно, это связано с наруше-

нием процессов дифференцировки Т-лимфоцитов и более быстрым истощением возможностей центрального органа иммунитета. В селезенке наблюдалось достоверное уменьшение площади белой пульпы, единичные вторичные узелки малых размеров и развитие грубой соединительной ткани между тяжами красной пульпы, а в периферической крови - достоверное уменьшение количества лимфоцитов, в том числе - Т-клеток. Вместе с тем, естественная элиминация В-лимфоцитов при отсутствии стимулированной пирогеналом пролиферации их в селезенке обусловила существенное уменьшение количества последних в периферической крови. Наличие же тенденции к увеличению процентного содержания гамма-глобулинов при его достоверном уменьшении в контроле, как и в предыдущей группе, свидетельствовало об отсутствии в сыворотке достаточного количества специфических иммуноглобулинов для нейтрализации пирогенала, то есть "дефектном" гуморальном ответе.

При сравнении данных, характеризующих реакцию иммунной системы на введение Т-независимого антигена у потомства самок, которые подверглись воздействию пирогенала на 18-е сутки беременности, с таковой у потомства самок контрольной группы наблюдались аналогичные, но менее выраженные изменения. Особенностью было наличие в красной пульпе селезенки значительного количества макрофагов с вакуолизированной цитоплазмой и базофильными остатками ядер лимфоцитов в последней.

Таким образом, наиболее существенные отличия в ответной реакции на Т-независимый антиген наблюдались у потомства самок, которым вводили пирогенал на 11-е или 14-е сутки беременности, то есть в период закладки тимуса и селезенки, заселения их лимфоцитами (М.А. Долгова и соавт., 1982; М.А. Долгова, 1989; М.П. Медведева, 1968).

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПОТОМСТВА САМОК, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ПИРОГЕНАЛА В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ БЕРЕМЕННОСТИ, ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ Т-ЗАВИСИМОГО АНТИГЕНА НА 35-Й И 40-Й ДНИ ПОСЛЕ РОЖДЕНИЯ.

После нагрузки Т-зависимым антигеном (эритроциты барана) у 45-суточного потомства самок, которым вводили пирогенал на 11-е сутки беременности, в субкапсулярном слое и собственно корковом веществе тимуса наблюдалось увеличение митотического

индекса лимфоцитов и процентного содержания средних лимфоцитов при уменьшении относительного количества малых форм в мозговом веществе. Связаны эти изменения, вероятно, с активизацией пролиферативных процессов в тимусе и более активной, чем у крысят контрольной группы, миграцией Т-лимфоцитов из мозгового вещества. Подтверждением последнего были тенденция к увеличению абсолютного количества Т-лимфоцитов в периферической крови и увеличение площади сечения вторичных узелков в селезенке, в то время как у крысят контрольной группы отмечалось снижение этих показателей (Н.А. Волошин, А.Г. Яхница, 1982).

Аналогичные, но менее выраженные отличия в реакции на Т-зависимый антиген имели место у потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала на 14-е и 18-е сутки беременности. Характерной особенностью ответной реакции у крысят последней подопытной группы было существенное увеличение в красной пульпе селезенки количества макрофагов, особенно их активированных форм.

Кроме того, если после нагрузки эритроцитами барана у крысят контрольной группы наблюдалось значительное уменьшение процентного содержания гамма-глобулинов с соответствующими титрами гемагглютинирующих и гемолизирующих антител, то у потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала в период беременности - тенденция к увеличению процентного содержания гамма-глобулинов на фоне довольно низких титров гемагглютининов и гемолизиннов в сыворотке крови. Последнее свидетельствует о низких титрах иммуноглобулинов классов М и G, так как IgG составляют более 90 % в составе гемолизиннов, а гемагглютинины в основном представлены IgM (А.Е. Вершигора, 1989; Л. Йегер, 1990). Тем не менее, ответная реакция подопытных животных в отношении Т-зависимого антигена практически полностью соответствует таковой в контроле.

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования показали роль воздействия пирогенала на систему "мать-плод" в возникновении морфофункциональных изменений в органах иммунной системы потомства на ранних этапах постнатального развития. Благодаря различным срокам введения пирогенала беременным самкам показано, что критическими в отношении действия пирогенала на иммунную систему потомства, как и для других тератогенных и

эмбриотоксических факторов по данным обзора литературы, являются периоды закладки и органогенеза иммунокомпетентных органов. Подтверждением этого были морфофункциональные изменения в центральном (тимус) и периферическом (селезенка) органах иммунной системы потомства, выявленные в конце подсосного периода и у практически половозрелых животных. Кроме того, выявлена неадекватная реакция иммунной системы на Т-независимый антиген у потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала в период беременности.

Полученные в эксперименте данные убедительно доказывают роль грамтрицательных инфекций матери в задержке формирования тимуса и селезенки, снижении иммунологических показателей периферической крови у потомства на ранних этапах постнатального развития, что обращает внимание клиницистов, в частности, акушеров, на необходимость исключения данной патологии либо санирования очагов хронической инфекции. С другой стороны, показана необходимость изучения иммунного статуса, хотя бы в объеме определения титров гемагглютининов и гемолизинов в сыворотке крови, у детей неонатального и грудного возраста, матери которых перенесли грамтрицательную инфекцию в период беременности, для своевременной диагностики возможного развития иммунодефицитного состояния. Адекватная коррекция иммунного статуса позволит снизить повышенную чувствительность этих детей к бактериальным инфекциям.

В ы в о д ы

1. Бактериальный липополисахарид пирогенал, вводимый однократно на 11-е, 14-е или 18-е сутки беременности, вызывает задержку развития тимуса и селезенки у потомства, степень выраженности которой зависит от срока воздействия.
2. Максимальные морфофункциональные изменения в тимусе и селезенке, заключающиеся в задержке формирования их структур, нарушении процессов пролиферации, дифференцировки и миграции в них лимфоцитов, развиваются у 20-суточного потомства при введении пирогенала в период закладки этих органов.
3. К 45-м суткам основные признаки отставания развития тимуса и селезенки у потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала в период беременности, менее выражены, что указывает

на их транзиторность.

4. Независимо от сроков воздействия пирогенала на систему "мать-плод" у 45-суточного потомства достоверно снижены показатели клеточного и гуморального иммунитета.
5. Нагрузка Т-независимым антигеном 45-суточного "пирогеналового" потомства вызывает ускоренную акцидентальную инволюцию тимуса, лимфоидное опустошение селезенки, снижение иммунологических показателей крови, что свидетельствует о нарушениях гуморального ответа.
6. Ответная реакция на Т-зависимый антиген у 45-суточного потомства самок, подвергшихся воздействию пирогенала в период беременности, не отличается от таковой в контроле, что указывает на отсутствие нарушений в клеточном звене иммунитета.

СПИСОК

ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Особенности постнатального развития белых крыс при введении пирогенала в период беременности // Материалы VI Гродненской областной конференции молодых ученых и специалистов "Наука - практике". - Гродно, 1990. - С. 74 (Соавторы Троян Э.И., Слободская Н.С.).
2. Изменения иммунологических показателей периферической крови потомства белых крыс при воздействии пирогенала в период беременности // Материалы VII Гродзенскай абласной канферэнцыі маладых вучоных і спецыялістаў прысвечанай 250-годдзю з дня нараджэння Ж.Э. Жылібера. - Гродна, 1991. - С. 24.
3. Морфофункциональные изменения в иммунной системе потомства белых крыс при воздействии пирогенала в период беременности // Материалы Объединенного II съезда анатомов, гистологов и эмбриологов и X съезда хирургов Белоруссии. - Минск, 1991. - Т. 1. - С. 19 (Соавтор Бандажевский Ю.И.).
4. Влияние пирогенала на состояние печени у потомства белых крыс / Ред. "Фармакология и токсикология". - М., 1991. - 8 с. - Деп. в ВИНТИ 28.10.91, N 4114-В (Соавторы Бандажевский Ю.И., Слободская Н.С., Пальцева А.И., Капитонова Э.К., Троян Э.И.)
5. Способ определения В-лимфоцитов крыс // Здоровоохранение Беларуси. - 1992. - N 10. - С. 44 (Соавтор Адонкин Ф.С.).

6. Морфофункциональные аспекты влияния биологических и физических факторов на процессы пре- и постнатального развития // XI съезд анатомов, гистологов и эмбриологов: Тез. докл. - Полтава, 1992. - С. 161 (Соавторы Мацюк Я.Р., Бандажевский Ю.И., Лис Р.Е., Бардин А.Р., Абакумов В.З., Виноградова Л.Е., Жук Н.Д., Зезюльчик М.Н., Слободская Н.С.).
7. Реакция на чужеродные антигены иммунной системы потомства белых крыс при воздействии пирогенала в период беременности // Здоровоохранение Беларуси. - 1992. - N 12. - С. 27-30 (Соавторы Бандажевский Ю.И., Мацюк Я.Р., Адонкин Ф.С.).
8. Способ определения Т-лимфоцитов в эксперименте // Здоровоохранение Беларуси. - 1993. - N 2. - С. 43-44 (Соавтор Адонкин Ф.С.).
9. Состояние иммунной системы у потомства белых крыс при воздействии пирогенала в период беременности // Вести АН РБ. - 1993. - N3. - С. 102-104 (Соавторы Бандажевский Ю.И., Мацюк Я.Р.).
10. Клеточная популяция тимуса у потомства белых крыс при введении пирогенала в период беременности // Материалы международной научной конференции, посвященной 35-летию Гродненского мединститута. - Гродно, 1993. - Ч. II. - С. 475-476.
11. Структурныя змяненні у цімусе і селязенцы белых пацукоу, якія былі пад антэнатальным уздзеяннем пірагеналу, пры увядзенні чужародных антыгенау у постнатальны час // Матэрыялы VIII Гродзенскай абласной канферэнцыі маладых вучоных і спецыялістау, прысвечанай да 35-годдзя з дня заснавання медыцынскага інстытута. - Гродна, 1993. - С. 15.
12. Особенности становления иммунной системы потомства белых крыс при введении пирогенала в различные сроки беременности / Принято к печати в "Материалы II Пленума Белорусского общества иммунологов и аллергологов". - Могилев, 1993 (Соавторы Бандажевский Ю.И., Мацюк Я.Р.).
13. Особенности формирования структуры тимуса и селезенки потомства белых крыс при воздействии пирогенала в период беременности // Морфология. - 1994. - Т. 104, N 4-6. - С. 9-17 (Соавторы Бандажевский Ю.И., Мацюк Я.Р.).

Р Е З Ю М Е

ТАРАСЮК ИГОРЬ ВАСИЛЬЕВИЧ

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ПИРОГЕНАЛА В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ

Ключевые слова: пирогенал, беременность, постнатальное развитие, иммунная система.

Морфологическими и функциональными методами исследования показано, что бактериальный липополисахарид пирогенал как составная часть эндотоксина грамотрицательных бактерий при введении самкам беспородных белых крыс на 11-е, 14-е или 18-е сутки беременности вызывает у 20- и 45-суточного потомства задержку развития тимуса и селезенки. Максимальные морфофункциональные изменения в последних, выражающиеся в отставании формирования их структур, нарушении процессов пролиферации, дифференцировки и миграции лимфоцитов, развиваются у 20-суточного потомства при введении пирогенала в период закладки этих органов. Нагрузка Т-независимым антигеном вызывает у 45-суточного "пирогеналового" потомства неадекватные изменения в иммунной системе: акцидентальную инволюцию тимуса III степени, лимфоидное опустошение селезенки и снижение иммунологических показателей крови, что свидетельствует о повреждении гуморального звена иммунитета. Показана необходимость изучения иммунного статуса у детей неонатального и грудного возраста, матери которых в период беременности перенесли грамотрицательную инфекцию, для своевременной диагностики и коррекции иммунодефицитного состояния.

ТАРАСЮК ІГАР ВАСІЛЬЯВІЧ

МОРФАФУНКЦЫЯНАЛЬНАЯ ХАРАКТАРЫСТЫКА ІМУННАЙ СІСТЭМЫ
ПАТОМСТВА БЕЛЫХ ПАЦУКОЎ ПРЫ ЁВЯДЗЕННІ ПІРАГЕНАЛУ
Ў ПЕРЫЯД ЦЯЖАРНАСЦІ

Ключавыя словы: пірагенал, цяжарнасць, постнатальнае развіццё, імунная сістэма.

Марфалагічнымі і функцыянальнымі метадамі даследвання паказана, што бактэрыяльны ліпаполісакрыд пірагенал, як састаўная частка эндатаксіну грамадмоўных бактэрый, пры ёвядзенні самкам беспародных белых пацую на 11-я, 14-я або 18-я суткі цяжарнасці выклікае ў 20- і 45-сутачнага патомства затрымку развіцця цімуса і селязёнкі. Максімальныя морфафункцыянальныя змяненні ў апошніх, якія выражаліся ў адставанні фарміравання іх структур, парушэнні працэсаў праліферацыі, дыферэнцыроўкі і міграцыі лімфацытаў, развіваюцца ў 20-сутачнага патомства пры ёвядзенні пірагеналу ў перыяд закладкі гэтых органаў. Нагрузка Т-незалежным антыгенам выклікае ў 45-сутачнага "пірагеналавага" патомства неадэкватныя змяненні ў імуннай сістэме: акцэнтальную інвалюцыю цімуса III ступені, лімфоіднае апусташэнне селязёнкі і зніжэнне імуналагічных паказчыкаў крыві, што сведчыць аб пашкоджанні гумаральнага зв'язна імунітэта. Паказана неабходнасць вывучэння імуннага стану ў дзяцей неанатальнага і груднога ўзросту, маці якіх у перыяд цяжарнасці перанеслі грамадмоўную інфекцыю, для своечасовай дыягностыкі і карэкцыі імунадефіцытнага стану.

S U M M A R Y

TARASIUK IGOR VASIL'EVICH

MORPHO-FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF IMMUNE SYSTEM
IN WHITE RATS WHOSE MOTHERS RECEIVED PYROGENAL
DURING PREGNANCY.

Keywords: pyrogenal, pregnancy, postnatal development, immune system.

Bacterial lipopolysaccharide pyrogenal (a constituent of gram-negative bacterial endotoxin) injected to pregnant female mongrel rats at 11, 14, or 18 day of pregnancy causes a retardation of thymus and spleen development in their litter at the age of 20 and 45 days, as was shown by morphologic and functional methods of investigation. Maximal morpho-functional changes in thymus and spleen after pyrogenal administration during beginning of formation of these organs were developed in age of 20 days, being expressed as slower formation of organ structures, impairment of lymphocyte proliferation, differentiation and migration processes. Loading by T-independent antigen resulted in inadequate changes of immune system in 45-day-old 'pyrogenal-treated' rats: accidental involution of thymus (grade III), lymphoid emptying of spleen and lowering of blood immunologic indices, indicating the impairment of humoral immunity. The results suggest a need of immune status monitoring in infants, whose mothers had gram-negative infection during pregnancy, for proper diagnosis and correction of immune deficiency state.