

3. Тестирование концентрации МСМ у беременных с гестозами позволяет диагностировать ХВУИ плода, патогенетически обосновать лечебные мероприятия, направленные на детоксикацию организма беременной и плода, определить тактику неонатолога в родильном блоке и палате интенсивной терапии детского отделения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асмоловская Л. В., Забрасаева Л. И., Гришко Т. В. и др. Проблемы перинатальной патологии.— VII Всероссийский съезд детских врачей.— Иваново, 1987.— Ч. II.— С. 155.
2. Ветров В. В., Леванович В. В. // Акуш. и гин.— 1990.— № 6.— С. 50—54.
3. Власова Л. И., Куликова Н. Н., Смекуна Ф. А. // Вопр. охр. мат.— 1990.— № 10.— С. 19—21.
4. Габриэлян Н. И., Левицкий Э. Р., Дмитриев А. А. и др. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях: Методические рекомендации.— М., 1985.
5. Кошелева Н. Г., Евсюкова И. И. // Сов. мед.— 1991.— № 12.— С. 29—32.

УДК 582.28:576.8.097.3

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ ПЛЕСНЕВОГО ГРИБА *ALTERNARIA TENUIS*

В. П. Нефедов, Н. И. Глушко, О. В. Нефедов, В. М. Лукашков

Кафедра клинической лабораторной диагностики (зав.— проф. А. П. Цибулькин) Казанского института усовершенствования врачей, лаборатория по разработке грибковых аллергенов (зав.— канд. мед. наук В. М. Лукашов) КНИИЭМ

Alternaria tenuis — широко распространенный в природе сапрофитный и фитопатогенный микроскопический гриб. Одним из первых среди плесневых грибов этот вид стал известен как причина аллергических заболеваний. Он входит в первую пятерку наиболее значимых грибковых аллергенов [5]. Аллергеноактивные фракции из спор и мицелия *Alternaria tenuis*, попадающие в респираторный тракт человека, формируют преимущественно гиперчувствительность немедленного типа [3, 4]. В целях диагностики аллергии к данному виду гриба была разработана технология получения диагностического аллергена [1]. Диагностическая доза препарата (200 PNU в 0,05 мл) вызывает преимущественно реакции немедленного типа (до 90% случаев), что вполне соответствует реактивному иммунному ответу на неинфекционные аллергены [2].

Для применения полученного ал-

6. Михельсон В. А., Межирова Н. М. // Педиатрия.— 1991.— № 5.— С. 33—36.

7. Стрижова Н. В., Крамарина В. А., Зорина Р. М. и др. // Акуш. и гин.— 1991.— № 10.— С. 13—16.

8. Holloway C. I., Brunner G., Schmidt R. et al. *Henoperfusion: Kidney and Liver Support and Detoxification*/Ed. S. Sideman, T. M. S. Chang.— Washington, 1980.

Поступила 14.05.93.

DIAGNOSIS OF CHRONIC INTRAUTERINE INTOXICATION OF THE FETUS IN GESTOSES BY THE LEVEL IN THE MEAN MASS MOLECULES

O. I. Pikuza, L. Z. Shakirova

Summary

The strong data on the diagnostic importance of the determination of the mean mass molecules are given. The concentration test of the mean mass molecules in pregnant with gestoses allows to diagnose the chronic intrauterine intoxication of the fetus, to justify pathogenetically the medical measures aimed at detoxication of the pregnant organism and fetus, to define the neopathologist tactics in the obstetric department and intensive therapy ward of the infantile department.

лергена *Alternaria tenuis* в лечебной практике возникла необходимость дополнительного изучения его иммуногенных свойств, а также соответствия реакции иммунной системы на биомассу гриба и растворимый препарат. С этой целью нами проведен сравнительный анализ иммунологического ответа морских свинок на однократное введение биомассы гриба *Alternaria tenuis* и изучаемого аллергена на разных сроках сенсибилизации, что позволит сделать вывод о соответствии антигенного спектра разработанного препарата антигенам данного гриба.

Во всех опытах использовали производственный штамм гриба *Alternaria tenuis* V—I. Изготовление аллергена проводили по разработанному экспериментально-производственному регламенту: состав аллергена соответствовал ВФС-42127-ВС-87.

Дезинтернат биомассы гриба получали методом ручного растирания

воздушно-сухого мицелия гриба с последующей экстракцией 0,05 М фосфатным буфером рН 7,0 в течение 18 часов при +4°C. Препараты изучали методом гель-хроматографии на сефадексе G-100 с определением в каждой фракции содержания белка, углеводов, иммунохимических свойств в реакции иммунодиффузии (РИД) с гомологичной антисывороткой и постановкой кожно-аллергических проб на сенсibilизированных морских свинках. Сенсibilизацию морских свинок для постановки кожных проб проводили однократным введением дезинтеграта биомассы в смеси с неполным адьювантом Фрейнда (1:1) в подлопаточную область из расчета 15 мг биомассы на 100 г массы тела животного. Кожные пробы ставили на 21-е сутки сенсibilизации. Для каждой серии опытов использовали не менее 10 животных.

Иммунорфологические исследования проведены на 45 морских свинок-самцах массой тела от 300 до 400 г (из них 40 подопытных и 5 контрольных животных). Подопытные животные были разделены на 2 серии. Морским свинкам 1-й серии вводили биомассу плесневого гриба *Alternaria tenuis* с неполным адьювантом Фрейнда (в соотношении 1:1) по 0,5 мл в каждое бедро подкожно из расчета 10 мг биомассы на одно животное. Морским свинкам 2-й серии вводили аллерген гриба с неполным адьювантом Фрейнда (в соотношении 1:1) по 0,3 мл в каждое бедро подкожно из расчета по 0,06 мг белкового азота на одно животное. Контрольным морским свинкам вводили только адьювант Фрейнда по 0,5 мл. Животных умерщвляли под эфирным наркозом на 7, 14 и 22-е дни сенсibilизации.

При вскрытии животных определяли весовой индекс (ВИ) тимуса, селезенки и надпочечников. Помимо этих органов гистологическому и гистохимическому исследованию (после фиксации кусочков органов в смеси Карнуа) подвергали паховые и парааортальные (забрюшинные) лимфатические узлы, регионарные к месту введения антигена. Парафиновые срезы органов окрашивали гематоксилин-эозином, по Мак Манусу на полисахариды (ШИК-реакция) и по Браше на РНК.

Проведенная гель-хроматография на

сефадексе G-100 дезинтеграта нативной биомассы и разработанного аллергена *Alternaria tenuis* показала, что оба образца содержали по две основные фракции, обладающие иммунохимическими и аллергенными свойствами, примерно совпадающие по молекулярной массе (см. табл.). В составе гель-хроматографических фракций дезинтеграта имели место и низкомолекулярные компоненты, не обладающие иммунохимической и аллергенной активностью. По биохимическому составу во фракциях дезинтеграта отмечено преобладание в 5—10 раз содержания углеводных компонентов по сравнению с аналогичными фракциями разработанного нами препарата.

Различия в составе образцов можно объяснить тем, что по разработанной нами технологии получения аллергена предусмотрено удаление пигментов, токсических веществ и низкомолекулярных фракций препарата. Полученные результаты согласуются с данными ряда авторов [6, 7], по которым аллергеноактивные фракции *Alternaria tenuis* представляют собой гликопротеиды с молекулярной массой выше 20 кДа.

В опытной серии животных, которым вводили биомассу гриба, выявлены определенные иммунорфологические изменения в динамике сенсibilизации. ВИ тимуса на всех сроках сенсibilизации был увеличен в пределах 0,6—0,8 (в контроле — 0,5). Дольки вилочковой железы разной величины имели отчетливую границу между корковым и мозговым веществом. Увеличение ВИ органа происходило прежде всего за счет расширения коркового слоя. Характерно и увеличение числа телец Гассалья в мозговом слое, хотя их количество варьировало в разных долях от 1—2 до 8—10 (в среднем 5—6 телец на дольку), причем половина телец были кистозно изменены и заполнены «гематоксилиновыми тельцами». Однако на 22-й день сенсibilизации в кистозно расширенных тельцах преобладали «жемчужины» из полуороговевших клеток.

ВИ селезенки был также увеличен до 1,5 по сравнению с контролем (1,1). Количество фолликулов (на площадь поперечного среза органа) нарастало от 10—12 в контроле до 16—18 на

Препараты	№№ фракций	Молекулярная масса, кДа	Состав — белок: углеводы	Активность в РИД с гомологичной антисывороткой	Кожно-аллергические пробы на морских свинках в мм (средняя из 10 значений)
Дезинтегра́т биомассы	I	100	1:10	3+	12,4±1,2
	II	50—70	1:5	+	10,7±0,8
	III	10	1:2	отр.	отр.
Разработанный аллерген	I	100	1:1	3+	11,8±1,4
	II	60—70	1:1	2+	12,0±1,1

7-й день сенсibilизации и до 21-25 на 14—22-й дни сенсibilизации. В половине фолликулов у подопытных морских свинок определялись реактивные центры (РЦ). Высокий уровень митотической активности отмечен в РЦ фолликулов и в мелких колониях плазматических клеток в красной пульпе на 7-й день опыта. Далее реакция РЦ затухала, а у колоний плазматических клеток становилась интенсивнее. На 7—14-й дни сенсibilизации синусы красной пульпы были узкими, в них выявлялись в основном полинуклеары с бедной ШИК-положительной зернистостью в цитоплазме. На 22-й день сенсibilизации синусы селезенки расширялись, и их клеточный состав становился более полиморфным.

Большинство поясничных лимфоузлов характеризовались гиперплазией фолликулов (до 12—14 в срезе) с увеличенными РЦ с 14-го дня опыта, а также выраженной плазматизацией мягкотных шнуров с выбросом большого числа лимфоцитов в синусы мозгового слоя. В небольшой части поясничных лимфоузлов имела место выраженная гиперплазия тимус-зависимой паракортикальной зоны, а в корковом слое этих узлов (между фолликулами) определялось много пиронинофильных бластных клеток.

В паховых лимфоузлах количество фолликулов с РЦ было в 2 раза меньше, чем в поясничных лимфатических узлах, и в них превалировала гиперплазия коры и паракортекса с 7-го дня сенсibilизации. В синусах мозгового слоя было мало лимфоцитов, но определялась пиронинофилия цитоплазмы макрофагов.

В группе животных, сенсibilизированных аллергеном *Alternaria tenuis*, морфологическая картина в иммунокомпетентных органах была в общем аналогичной описанному выше. Одна-

ко обращало на себя внимание увеличение ВИ вилочковой железы до 1,0—1,25 на 14—22-й дни сенсibilизации. Гиперплазия связана с расширением коркового слоя и высоким уровнем клеточности мозгового слоя. Количество телец Гассалья в дольках колебалось от 1—2 до 7—8, причем половина из них, как и в предыдущей серии опытов, была кистозно трансформирована и заполнена «гематоксилиновыми тельцами» (на 7—14-й дни сенсibilизации) или преимущественно роговыми «жемчужинами» (на 22-й день опыта). Характерно усиление ШИК-положительной реакции в стенке сосудов мозгового слоя долек с 14-го дня сенсibilизации.

ВИ селезенки у морских свинок 2-й серии был также увеличен от 1,5 (на 7 и 22-й дни сенсibilизации) до 1,8 (на 14-й день опыта). Количество фолликулов (на площадь поперечного сечения органа) нарастало от 14—17 (на 7-й день опыта) до 20—25 (на 14—22-й дни сенсibilизации). РЦ в фолликулах, а также значительная пиронинофилия В-зоны фолликулов определялись с 14-го дня сенсibilизации. На всех сроках эксперимента в красной пульпе селезенки превалировали мелкие колонии плазматических клеток, но в целом клеточность красной пульпы была значительной, причем в синусах было много нейтрофилов с ШИК-положительной цитоплазмой.

В поясничных лимфоузлах в 75% случаев преобладал иммунный ответ по гуморальному типу: гиперплазия фолликулов с увеличением РЦ, утолщение мягкотных шнуров с накоплением в них плазматических клеток (с 14-го дня сенсibilизации), выход лимфоцитов в синусы. ШИК-положительная окраска цитоплазмы макрофагов в синусах варьировала от ± до 2+ в

независимости от уровня плазматизации мягкотных шнуров.

В паховых лимфатических узлах число фолликулов с РЦ колебалось от 2 до 5 в поперечном срезе органа. В половине случаев наблюдалась плазматизация мягкотных шнуров с выходом лимфоцитов в синусы, а в половине случаев была выражена гиперплазия паракортекса. ШИК-реакция в цитоплазме макрофагов этих узлов также широко варьировала и не зависела от уровня иммунного ответа.

В обеих сериях подопытных животных ВИ надпочечников (0,4—0,45) практически не отличался от такового у контрольных животных (0,4—0,5). В 2/3 случаев, когда имела место очаговая гиперплазия клубочковой зоны в паховых лимфатических узлах, превалировал иммунный ответ по клеточному типу (выраженная гиперплазия паракортикальной зоны).

Таким образом, разработанный аллерген *Alternaria tenuis* содержал практически все иммунологически активные и аллергенные компоненты гриба. Результаты сравнительного морфологического изучения иммунокомпетентных органов двух серий животных, которым вводили биомассу гриба или очищенный аллерген *Alternaria tenuis*, показали в целом сходство иммуноморфологического ответа по характеру и срокам развития: преобладание гуморального иммунного ответа в поясничных лимфоузлах и клеточного иммунного ответа в паховых лимфоузлах, корреляцию между гиперплазией паракортикальной зоны в паховых лимфоузлах и очаговой гиперплазией клубочковой зоны в надпочечниках. Отмечены лишь большая гиперплазия тимуса и значительная

клеточность красной пульпы селезенки с накоплением ШИК-положительных лейкоцитов в синусах при введении аллергена (на 14—22-й дни сенсибилизации).

Отсутствие различий в иммуноморфологическом ответе на очищенный аллерген *Alternaria tenuis* и биомассу этого гриба подтверждает сходство антигенных спектров разработанного аллергена и гриба.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глушко Н. И. Инфекционная аллергия и иммунитет.— Казань, 1986.
2. Фрадкин В. А. Диагностические и лечебные аллергены.— М., 1990.
3. Budd T. W., Kuo C. U., Cazin J. O., Yoo T. Y.//Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol.— 1983.— Vol. 71.— P. 83—87.
4. Grant W., Orman S., Kuo C. J.//J. Allerg. Clin. Immunol.— 1983.— Vol. 15.— P. 96—99.
5. Gravesen S.//Allergy.— 1985.— Vol. 40.— P. 21—23.
6. Heide S.//Allergy.— 1985.— Vol. 40.— P. 592—598.
7. Yunginger I. W., Jones R. T.//J. Allerg.— Clin. Immunol.— 1980.— Vol. 66.— P. 138—147.

Поступила 26.01.94.

STUDY OF IMMUNOGENIC PROPERTIES OF THE ALTERNARIA TENUIS MOULD

V. P. Nefedov, N. I. Glushko, O. V. Nefedov, V. M. Lukashkov

Summary

On the model of guinea-pigs sensitized by biomass and allergen from the *alternaria tenuis* mould, the comparative study of immunologic response to the injection of these drugs is performed. In morphologic study of immunocompetent organs of animals the lack of distinctions of the immunomorphologic response in nature and terms of development to purified allergen and mould mass, suggesting the similarity of their immunologically active components, is shown.