

С.А.Бугоркова, С.Ю.Задумина, С.А.Пионтковский, Т.В.Бугоркова, Л.В.Самойлова

**ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАКЦИИ КЛЕТОК APUD-СИСТЕМЫ МОРСКИХ СВИНОК  
КАК МАРКЕР АДАПТАЦИОННО-КОМПЕНСАТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ  
ПРИ АЭРОГЕННОЙ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ ЧУМЫ**

ФГУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Проведен морфометрический анализ реакции клеток APUD-системы (нейроэндокринных клеток – НЭК) у морских свинок при аэрогенном способе введения живой чумной вакцины (ЖЧВ). Результаты исследования сопоставлены с данными характеристики состояния внутренних органов биомодели. Установлено, что изменения морфофункционального состояния НЭК в легких и органах иммунитета носят фазный характер, свидетельствующий о заинтересованности элементов APUD-системы при ингаляционном способе поступления антигенного материала. Оценка реакции клеток APUD-системы позволяет косвенно судить о характере адаптационно-компенсаторных процессов у биомодели при противочумной вакцинации.

*Ключевые слова:* живая чумная вакцина, APUD-система, аэрогенная вакцинация.

Подкожное введение ЖЧВ не всегда защищает от ингаляционного заражения чумой [4], а аэрогенная иммунизация предохраняет животных как от подкожного, так и аэрозольного заражения вирулентными штаммами чумного микроба и уменьшает реактогенность вакцины при испытании на людях [3, 6]. Интерес к альтернативным схемам доставки антигенного материала обусловлен новыми данными о значении мукозальной системы иммунитета [7, 8] и связан с особой ролью клеток APUD-системы легких и лимфоидных органов, отвечающих за адаптационно-компенсаторные процессы в макроорганизме.

Целью работы был морфометрический анализ реакции апудоцитов (НЭК) у морских свинок при аэрогенном способе введения ЖЧВ.

**Материалы и методы**

Исследованию подвергнут архивный морфологический материал, подготовленный по общепринятой схеме [2] и хранившийся в парафиновых блоках. Морских свинок (33 особи массой 250–300 г) забивали через 1, 3, 7, 14, 21 и 45 сут после аэрогенной иммунизации (аспирационная доза на 1 животное –  $5 \cdot 10^5$  ж.м.к.) взвесью в 10 % растворе лактозы двухсуточной агаровой культуры эталонного вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ, выращенной при 28 °С. Контролем служили интактные морские свинки (ИК). Для морфологического исследования были взяты кусочки печени, сердца, легких, почек, надпочечников, а также органов лимфоидной системы – селезенки, регионарных (РЛУ – бифуркационных) и отдаленных (ОЛУ – подмышечных и паховых) лимфатических узлов. Полутонкие срезы окрашивали гематоксилином и эозином [1]. Среди НЭК легких и лимфоидных органов импрегнацией серебром по Массону в модификации Гамперля выявляли аргентаффинные (АГ) клетки, по Гримелиусу – аргиро-

фильные (АГ) клетки [5]. Готовые срезы просматривали в биологическом микроскопе Olympus CX 31 с видеокамерой JVC. Морфометрические характеристики оценивали с помощью денситоморфометрической программы аппаратно-программного комплекса МЕКОС-Ц (версия 2.1.0.0). О наличии и морфофункциональном состоянии АГ и АГ клеток судили по характеру распределения и количеству продукта гистохимической реакции. Вычисляли: в лимфоидных органах – количество фолликулов (в том числе со светлыми центрами) в срезе, их площадь (S); в легких – перфузионно-вентиляционное отношение (ПВО) = S альвеол/S капилляров на 1  $\text{мкм}^2$  срез; в печени для светлых гепатоцитов – ядерно-цитоплазматический индекс (ЯЦИ) = S ядра/S цитоплазмы, а также деструктивный индекс (ДИ) – удельный вес элементов с проявлениями цитопатологии (на 1000 клеток); в почках – индекс функциональной активности (ИФАП) = S почечного тельца/S сосудистого клубочка на 1  $\text{мкм}^2$  срез; в надпочечниках – стрессорный индекс ( $I_{\text{стресс}}$ ) = ширина коркового вещества/ширина мозгового вещества.

**Результаты и обсуждение**

При ингаляционном введении *Y. pestis* EV микробные клетки с 3-х суток вызывали развитие местной продуктивной реакции в верхних дыхательных путях (очаговый десквамативный бронхит) и в легочной ткани – в виде инфильтрации межальвеолярных перегородок гистиоцитами, мононуклеарами с примесью макрофагов. К 7-м суткам вокруг отдельных бронхиол и артериол формировались зоны гиперплазии лимфоидных и гистиоцитарных элементов. У отдельных животных обнаруживали участки серозно-десквамативной и серозно-геморрагической пневмонии (рис. 1, А) и немногочисленные эпителиоидно-клеточные гранулемы, иногда с признаками распада

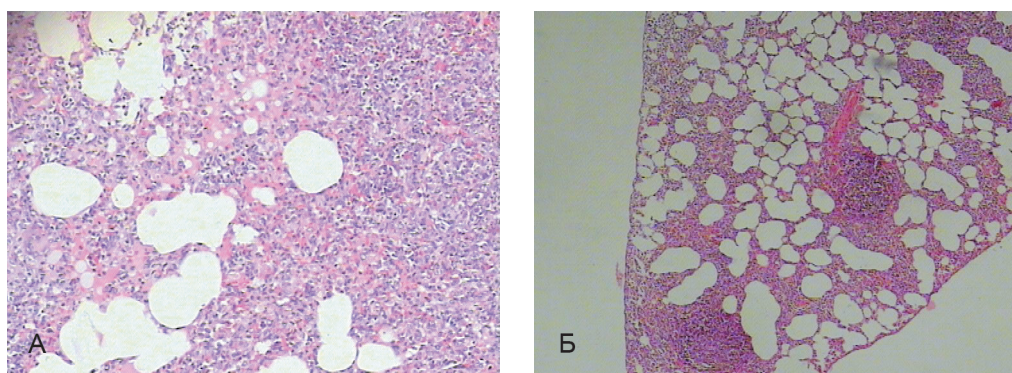


Рис. 1. Морская свинка. Легкое. 3-и сутки после аэрогенной иммунизации *Y. pestis* EV:

А – очаг серозно-геморрагической пневмонии, Б – эпителиоидно-клеточная гранулема в начальной стадии трансформации в «псевдоабсцесс». Окр. Г.Э. Ув. А –  $\times 100$ , Б –  $\times 40$

и формированием «псевдоабсцессов» (рис. 1, Б). С 14-х суток отмечали постепенное стихание гиперпластических процессов и уменьшение количества гранул, но в гиперплазированных лимфоидных образованиях легких заметно увеличивалось число бластических элементов и плазматических клеток. Наличие множественных микроочагов ателектазов, участков резкого полнокровия капилляров в легочной ткани приводило с 7-х по 45-е сутки к резкому снижению показателя ПВО относительно ИК (6,8–8,4 и 17,6 соответственно). На протяжении всего периода наблюдения число НЭК в органе (таблица) было снижено за счет их опустошения (рис. 2, А).

В РЛУ незначительная гиперплазия лимфоидных элементов появлялась к 3-м суткам, в отдельных случаях отмечалась картина умеренного серозного лимфаденита. К 7-м суткам нарастала макрофагальная реакция. С 3-х по 14-е сутки увеличивалось число и площадь фолликулов (соответственно до 2,7 и 1,5 раз в сравнении с ИК) с нарастанием количества (в 2–2,5 раза) и активности их светлых центров. Гиперплазия паракортикальной зоны и мозгового вещества была связана, в первую очередь, с увеличением количества лимфоидных элементов, но с 7-х суток возрастало и число ретикулярных клеток. Максимальное развитие гиперпластических процессов в корковом веществе органа, существенно превышающих показатели ИК, приходилось на 14–21-е сутки и сохранялось вплоть до 45-х суток. Реакция НЭК (рис. 2, Б) в РЛУ находилась в прямой зависимости от выраженности воспалительного компонента: так, на фоне явлений сероз-

ного лимфаденита отмечали снижение числа АТ клеток вплоть до 21-х суток, а количество АГ элементов несколько превышало контрольные показатели в 1-е и на 14-е сутки, когда активизировались гиперпластические процессы (таблица).

В ОЛУ общая тенденция изменений была аналогичной, но развивалась с некоторой задержкой. Со стороны НЭК отмечали рост их числа до 7-х суток как признак активации процессов иммуногенеза в органе на фоне незначительно выраженного воспалительного компонента и последующее уменьшение количества этих элементов к 21-м суткам как следствие необходимости ограничения иммунологических сдвигов в организме. К 45-м суткам количество НЭК в ОЛУ практически возвращалось к контрольным значениям (таблица).

В селезенке через 3 сут после иммунизации обнаруживали участки серозного пропитывания капсулы и трабекул, умеренной инфильтрации красной пульпы лимфогистиоцитарными элементами с примесью единичных полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) и гиперплазию эндотелия синусов красной пульпы с частичным их сращиванием. С 7-х суток в органе регистрировали появление гранул (до 12 в срезе), но начинались и гиперпластические процессы в лимфатических фолликулах с увеличением их числа и S (соответственно до 2,8 и 1,5 раз по сравнению с ИК) и с увеличением количества (в 1,7–2,8 раза) и активности их светлых центров, а также гиперплазия ретикулярных клеток красной пульпы. Нарастание количества бластических элементов одновременно

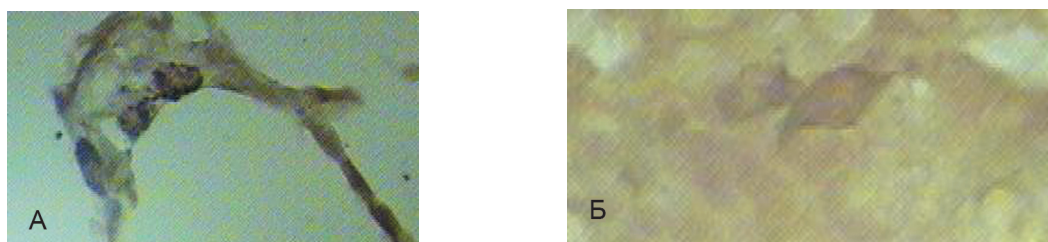


Рис. 2. Морская свинка. 7-е сутки после аэрогенной иммунизации *Y. pestis* EV:

НЭК: А – легкое, Б – РЛУ. Импрегнация серебром по Массону в модификации Гамперля. Ув.  $\times 400$

Динамика реакции НЭК (апудоцитов) морских свинок при аэрогенной иммунизации вакцинным штаммом чумного микроба EV линии НИИЭГ (M±m)

Вид НЭК	Наблюдение, сут						ИК
	1-е	3-е	7-е	14-е	21-е	45-е	
Легкие							
АТ-клетки	2,7±0,5	2,1±0,1	2,4±0,5	2,5±0,5	2,6±0,7	2,7±0,7	3,4±0,7
АГ-клетки	2,2±0,5	2,3±0,7	1,6±0,2*	3,1±1,0	2,3±0,5	2,2±0,9	3,7±1,6
РЛУ							
АТ-клетки	3,3±0,9	1,7±0,2*	2,9±0,5	2,5±0,3	0,6±0,1*	2,1±0,1	3,6±1,2
АГ-клетки	4,8±1,2	2,8±0,5	2,6±0,6	4,1±1,5	2,5±0,5	2,6±2,0	3,3±0,9
ОЛУ							
АТ-клетки	6,1±1,7*	4,3±1,5	5,1±1,1*	2,5±0,3	1,8±0,5*	2,5±0,3	3,1±0,6
АГ-клетки	4,1±1,0	3,4±1,9	6,1±1,5*	3,3±0,2	2,7±0,4	3,1±1,0	3,3±0,8
Селезенка							
АТ-клетки	3,8±1,1	4,8±1,0	5,9±1,5	6,1±3,5*	4,3±0,2	2,8±1,0*	3,9±1,0
АГ-клетки	5,5±1,8	5,1±1,1	2,6±0,5	4,5±1,0	7,0±1,2*	5,3±0,9	4,5±1,3

\*Достоверность  $p < 0,05$  по отношению к ИК.

в пульпе и лимфатических фолликулах активно происходило с 14-х суток. Умеренная активация НЭК, начинающаяся с 3-х суток, достигала максимума со стороны АТ клеток к 14-м, а АГ – к 21-м суткам. В последующие сроки количество НЭК снижалось, но число АГ клеток сохранялось на более высоком, чем у ИК, уровне вплоть до 45-х суток (таблица).

Во внутренних органах животных наблюдали гемодинамические нарушения и дистрофические процессы. В печени с 3-х по 14-е сутки наблюдали образование гранулем (до 3–8 в срезе), а к 21-м суткам – их трансформацию в «псевдоабсцессы». Функциональное напряжение светлых гепатоцитов центра долек проявлялось уменьшением S их ядер и показателя ЯЦИ, увеличением ДИ. В отдельных случаях эти изменения приводили к очаговому некробиозу клеток. В органе достаточно часто встречались междольковые лимфогистиоцитарные инфильтраты от 3–5 клеток до 20 и более. Умеренная пролиферация клеток РЭС печени наблюдалась к 21-м суткам.

В почках имело место неравномерное полнокровие сосудов мозгового и коркового вещества, умеренная дистрофия эпителия извитых канальцев. Отмечали незначительную гиперплазию эндотелия капилляров и умеренную пролиферацию мононуклеаров в сосудистых клубочках, приводящих к достоверному, по сравнению с ИК, увеличению площадей почечных телец (в 4,6–6 раз), сосудистых клубочков (в 3,8–6 раз) и возрастанию ИФАП.

Максимум стресс-реакции макроорганизма, характеризующейся по изменению состояния различных зон надпочечников, был отмечен на 3-и сутки. С 1-х по 7-е сутки на фоне умеренной гиперплазии коркового вещества, особенно выраженной на 3-и сутки, наблюдали гипоплазию их клубочковой зоны и рез-

кое снижение феохромии мозгового вещества с его гипоплазией на 3–7-е сутки. В этот же период  $I_{сmpc}$  превышал контрольное значение в 3,2–1,6 раза.

Таким образом, реакция организма морских свинок на аэрогенное введение вакцинного штамма *Y. pestis* EV сопровождалась образованием гранулем в легких и в других внутренних органах. В лимфоидных органах уровень активации апудоцитов коррелировал с выраженностью воспалительных и гиперпластических процессов. При этом динамика изменений морфофункционального состояния НЭК в легких и органах иммунитета носила фазный характер, что свидетельствовало о заинтересованности элементов APUD-системы при ингаляционном способе поступления антигенного материала. Полученные данные о реакции клеток APUD-системы в организме позволили косвенно судить о характере адаптационно-компенсаторных процессов у биомодели при противочумной вакцинации.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир; 1969. 645 с.
2. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. М.: Медицина; 1969. 423 с.
3. Николаев Н.И., Самойлова Л.В. Изучение в эксперименте эффективности аэрозольной иммунизации регидротированной чумной живой сухой вакциной EV института «Микроб». Пробл. особо опасных инф. 1968; 1:47–50.
4. Самойлова Л.В. Динамика развития иммунитета к чуме после прививки живой вакциной и особенности иммуногенеза при этой вакцинации [автореф. дис. ... канд. мед. наук]. Саратов; 1968. 22 с.
5. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника: руководство. М.: Медицина; 1996. С. 375–418.
6. Чичерин Ю.В., Евстигнеев В.И., Романов В.Е. и др. Эффективность чумной живой сухой вакцины ГИИС при различных способах иммунизации павианов гамадрилов в отношении подкожного заражения возбудителем чумы. В кн.: Акт. вопр. профилактик. опасных инф. забол.: Тез. докл. межведомственной научн. конф. Киров; 1991. С. 125–6.
7. Alvarez M.L., Pinyerd H.L., Crisantes J.D. et al. Plant-made

subunit vaccine against pneumonic and bubonic plague is orally immunogenic in mice. *Vaccine*. 2006; 24(14):2477–90.

8. Jones T., Adamovicz J.J., Cyr S.L. et al. Intranasal Protollin/F1-V vaccine elicits respiratory and serum antibody responses and protects mice against lethal aerosolized plague infection. *Vaccine*. 2006; 24(10):1625–32.

S.A.Bugorkova, S.Yu.Zadumina, S.A.Piontkovskiy, T.V.Bugorkova,  
L.V.Samoylova

**Characteristic of Cells' Reaction of APUD-System  
of Guinea Pigs as Marker of Adaptive-Compensatory Processes  
under Aerogenic Immunization against Plague**

*Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov*

Carried out was morphometric analysis of cells' reaction of APUD system (neuroendocrinal cells) of guinea pigs immunized with live plague vaccine by aerogenic method. The results of investigations were compared with characteristics of the state of biomodel's internal organs. Elucidated was that

the changes of morphofunctional state of neuroendocrinal cells in lungs and organs of immunity were of phase character suggesting the involvement of APUD system elements in the inhalant method of antigenic material intake. Assessment of APUD-system cell's reaction enables to estimate indirectly the nature of adaptive and compensatory processes in biomodel in the course of anti-plague vaccination.

*Key words:* live plague vaccine, APUD system, aerogenic vaccination.

**Об авторах:**

Бугоркова С.А., Задумина С.Ю., Понтовский С.А., Бугоркова Т.В., Самойлова Л.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: microbe@san.ru

**Authors:**

Bugorkova S.A., Zadumina S.Yu., Piontkovskiy S.A., Bugorkova T.V., Samoylova L.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 410005, Saratov, Universitetskaya St., 46. E-mail: microbe@san.ru

Поступила 27.01.10.