

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТИМУСА НОВОРОЖДЕННЫХ В РАННЕМ НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Жураев Камолиддин Данабаевич

ассистент

Исламов Шавкат Эрийитович

д.м.н., доцент

Самаркандский государственный медицинский
университет (Самарканд, Узбекистан)

<https://doi.org/10.5281/zenodo.14592160>

Резюме. При изучении антенатальной смертности детей раннего возраста изучены патоморфологические и иммуногистохимические аспекты ткани тимуса. Согласно результатам, низкая положительная экспрессия в исследованной ткани тимуса маркеров CD3+ и CD4+ означает нарушение дифференцировки CD3+ лимфоцитов и образование небольшого количества Т-хелперов с маркерами CD4+, что означает резкое снижение устойчивости к инфекции и развитие иммунодефицита. Это подтверждается клинико-анамнестическими данными детей, скончавшихся в раннем неонатальном периоде на фоне преэклампсии и эклампсии у матери, умерших от сепсиса и септицемии вследствие попадания инфекции после рождения.

Ключевые слова: тимус, иммуногистохимия, инволюция, иммунодефицит, апоптоз.

Resume. In the study of antenatal mortality in young children, pathomorphological and immunohistochemical aspects of thymus tissue were studied. According to the results, low positive expression of CD3+ and CD4+ markers in the studied thymus tissue means a violation of CD3+ lymphocyte differentiation and the formation of a small number of T-helpers with CD4+ markers, which means a sharp decrease in resistance to infection and the development of immunodeficiency. This is confirmed by clinical and anamnestic data of children who died in the early neonatal period against the background of preeclampsia and eclampsia in the mother, who died of sepsis and septicemia due to infection after birth.

Key words: thymus, immunohistochemistry, involution, immunodeficiency, apoptosis.

Актуальность проблемы. Профилактика ранней неонатальной смертности у новорожденных, рожденных от матерей с преэклампсией и эклампсией, является одной из актуальных проблем современной

неонатологии, поскольку применение на практике разработанных и рекомендованных ВОЗ критериев живо- и мертворождения привело к увеличению числа зарегистрированных новорожденных с массой тела от 500 до 999 г [2,5]. Несмотря на относительно небольшую долю (0,2–2%) среди всех новорожденных, на долю глубоко недоношенных детей приходится 45–55% всех родов и 60–70% всех случаев ранней неонатальной смерти [7,14,23].

Эффективность выхаживания новорожденных с очень низкой массой тела зависит от морфофункциональной зрелости гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и иммунной систем, обеспечивающих постнатальную адаптацию детей [8,9,18].

Иммунная система плода развивается и функционирует в сложных условиях. С одной стороны, поддерживает внутренний гомеостаз плода, а с другой стороны, подвергаясь антигенным воздействиям со стороны организма матери, должен быстро адаптироваться и реагировать на эти воздействия [4,11,13]. Установлено, что такие процессы, как пролиферация, дифференцировка, миграция, кооперация и апоптоз в иммунной системе, генетически детерминированы [1,12,21,24].

В нашей стране необходимо постоянно учитываются все аспекты охраны материнства и детства.

Целью исследования является изучение патоморфологических и иммуногистохимических характеристик ткани тимуса при смерти детей в раннем неонатальном периоде.

Материал и методы исследования. Изучение морфологических особенностей тимуса 30 детей, родившихся на фоне преэклампсии и эклампсии, и умерших в раннем неонатальном периоде.

Результаты исследования и их обсуждение. В раннем неонатальном периоде на 0-7 сутки, наблюдается высокий уровень пролиферации в иммунных органах с высоким уровнем положительной экспрессии маркера Ki 67, который продолжается вместе со степенью дифференцировки [22,25].

В результате повышенного образования лимфоцитов, присутствующих в паренхиме полностью сформированного тимуса, то есть первичного иммунного органа, при 200-кратном увеличении выявляется положительная экспрессия маркера Ki 67 со средним показателем 26,1% в контрольной группе. .

В раннем неонатальном периоде повреждения, вызванные различными инфекциями, приводят к повышенному выбросу цитокинов и лимфокинов, что приводит к выбросу большого количества медиаторов воспаления через кровеносные и лимфатические сосуды. Это приводит к повышению гиперфункциональных показателей первичных иммунных органов. В результате в раннем неонатальном периоде в корковом веществе вилочковой железы выявляется большое количество малых лимфоцитов с повышенной митотической активностью [6,10,20].

В нашем исследовании среди умерших в раннем неонатальном периоде у 80,0% (24 пациента) наблюдалась высокая положительная экспрессия маркера Ki 67, в среднем 26,1% и выше. У 15,1% обследованных лиц была выявлена умеренная положительная экспрессия, что составило 16,7% (5 пациентов), тогда как у 3,3% (1 пациент) уровень экспрессии составил менее 10%. В нашем материале в 4/5 случаях высокая экспрессия, что можно считать в заключение является высокоположительным показателем, указывающим на высокую реакцию маркера Ki 67 (рис. 1, 2).

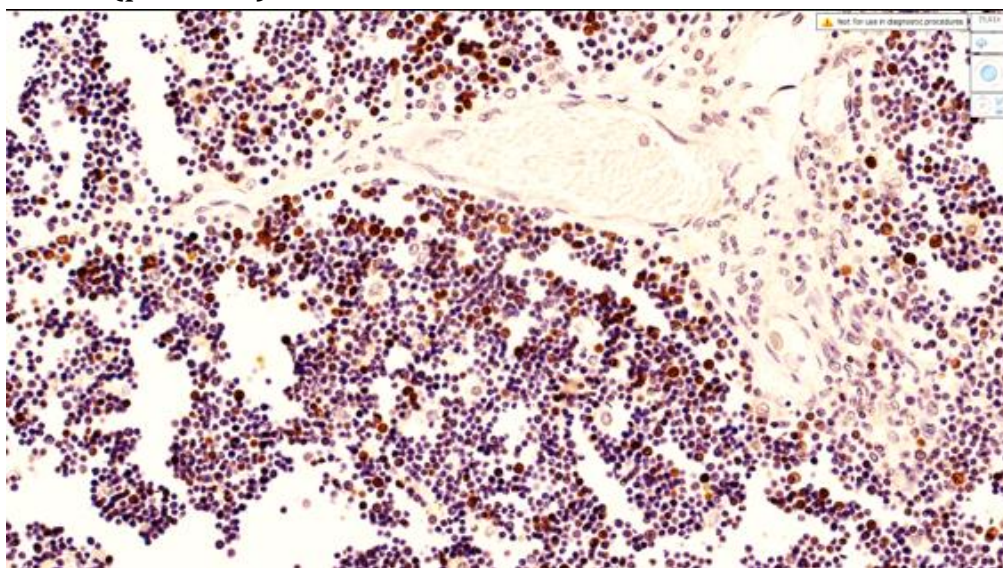


Рис. 1. Ткань тимуса новорожденного, умершего на 4-й день раннего неонатального периода. Высокая положительная экспрессия маркера Ki67 в ткани тимуса. Сканирован программой QuPath-0.4.0.ink. и определен уровень экспрессии. Экспрессированные клетки имеют темно-бурый цвет. Окраска Dab хромогенный. Увел.X40.

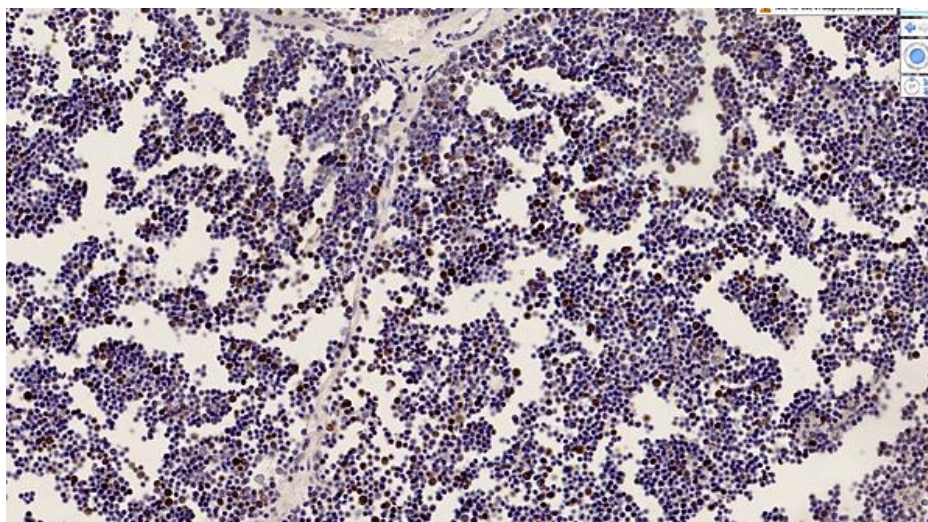


Рис. 2. Ткань тимуса новорожденного, погибшего на 6-й день раннего неонатального периода. Умеренно положительная экспрессия маркера Ki 67 в ткани тимуса. Сканирован программой QuPath-0.4.0.ink. и определен уровень экспрессии. Экспрессированные клетки имеют темно-бурый цвет. Окраска Dab хромогенный. Увел.Х40.

В нашем исследовании маркер CD3+ использовался в первую очередь как маркер, характеризующий Т-лимфоциты в проведенных исследованиях. Это подтверждает, что Т-лимфоцитарный клеточный иммунитет у новорожденных не сформирован в полной мере, так как именно за счет резкого снижения Т-лимфоцитов в корковом веществе тимуса, большая часть которых подвергается индуцированному апоптозу, и наблюдается низкая положительная экспрессия маркера CD3+, в основном окрашивающая макрофаги.

В нашем исследовании это в основном проявляется низким количеством незрелых малых лимфоцитов в корковом веществе тимуса и неполной дифференцировкой лимфоцитов CD3+ в сторону аутологичного антигена, что проявляется наличием лимфоцитов, но их корцепторы повреждены, что не дает положительные иммуногистохимические реакции. На этом этапе морфологически присутствующие Т-лимфоциты более многочисленны, а морфофункционально присутствующие дендритные клетки не обладают способностью распознавать аутологичные рецепторы толерантности на мембране лимфоцитов и остаются в форме протимоцитов, что подтверждает отсутствие связывания с используемым маркером CD3+, что подтверждает приведенные выше данные [17,19].

В нашем исследовании 83,3% испытуемых имели низкую положительную экспрессию, а 16,7% — отрицательную. Это означает, что лимфоцитов с маркером CD3+ очень мало (рисунки 3, 4).

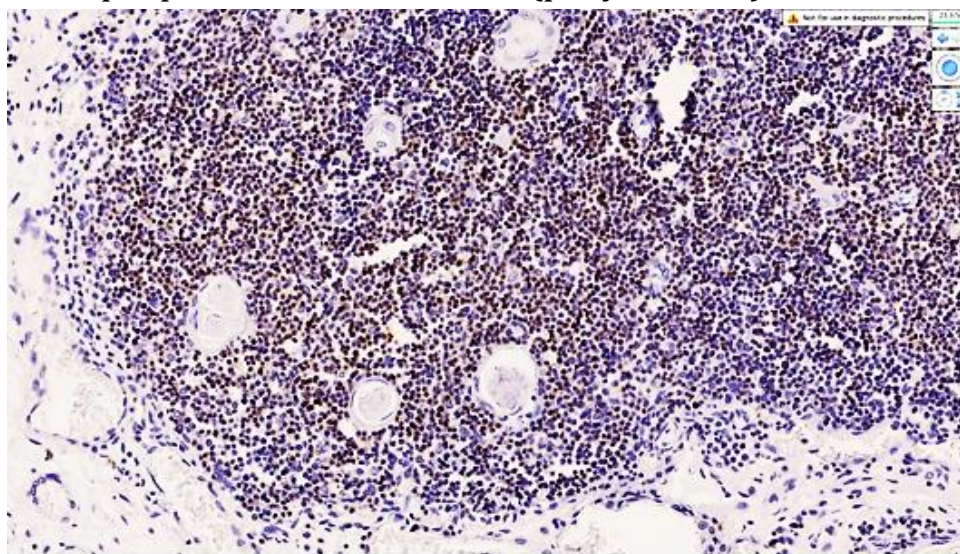


Рис. 3. Ткань тимуса ребенка, умершего на 3-й день раннего неонатального периода. Высокий уровень положительной экспрессии маркера CD3 в ткани тимуса. Сканирован программой QuPath-0.4.0.ink. и определен уровень экспрессии. Клетки, которые не экспрессируют большую часть красного цвета, показаны красным. Окраска Dab хромогенный. Увел.X40.

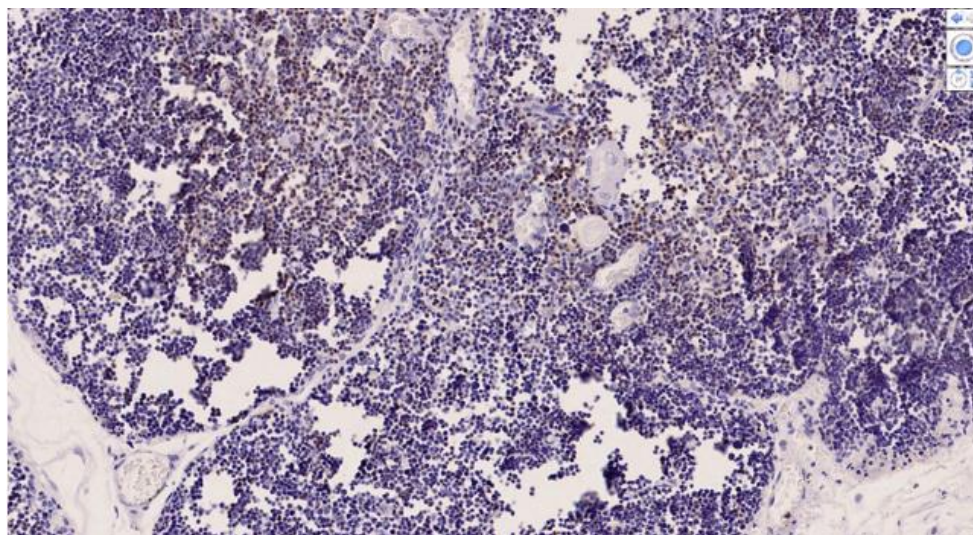


Рис. 4. Ткань тимуса новорожденного, умершего на 4-й день раннего неонатального периода. Высокий уровень положительной экспрессии маркера CD3 в ткани тимуса. Сканирован программой QuPath-0.4.0.ink. и определен уровень экспрессии. Невыраженные клетки темно-бурого цвета. Окраска Dab хромогенный. Увел.X40.

Одно из основных изменений в тимусе при аутопсии умерших в раннем неонатальном периоде было выявлено простыми



морфологическими исследованиями, которые проявлялись акцидентальной трансформацией тимуса и уменьшением иммунокомпетентных клеток [3,15,16]. Иммуногистохимические исследования, проведенные для идентификации субпопуляции Т-хелперов лимфоцитов с использованием маркера CD4+, показали очень низкий уровень положительной экспрессии, что обусловлено очень низким количеством Т-хелперов в корковом и мозговом веществе тимуса, которые вырабатывают иммуностимулирующие факторы, активирующие Т-киллеры и отсутствие аутологичной ткани подтверждают отсутствие развития дифференциации в сторону толерантности. В результате с клинико-морфологической точки зрения данное проявление рассматривается как разновидность иммунодефицита (рис. 5, 6).

Дальнейшей целью было определение маркера CD4+. Экспрессия маркера вилочковой железы и CD4+ также была очень низкой и рассеянной, в основном в макрофагах, в виде относительно крупных и вытянутых клеток вокруг посткапилляров.

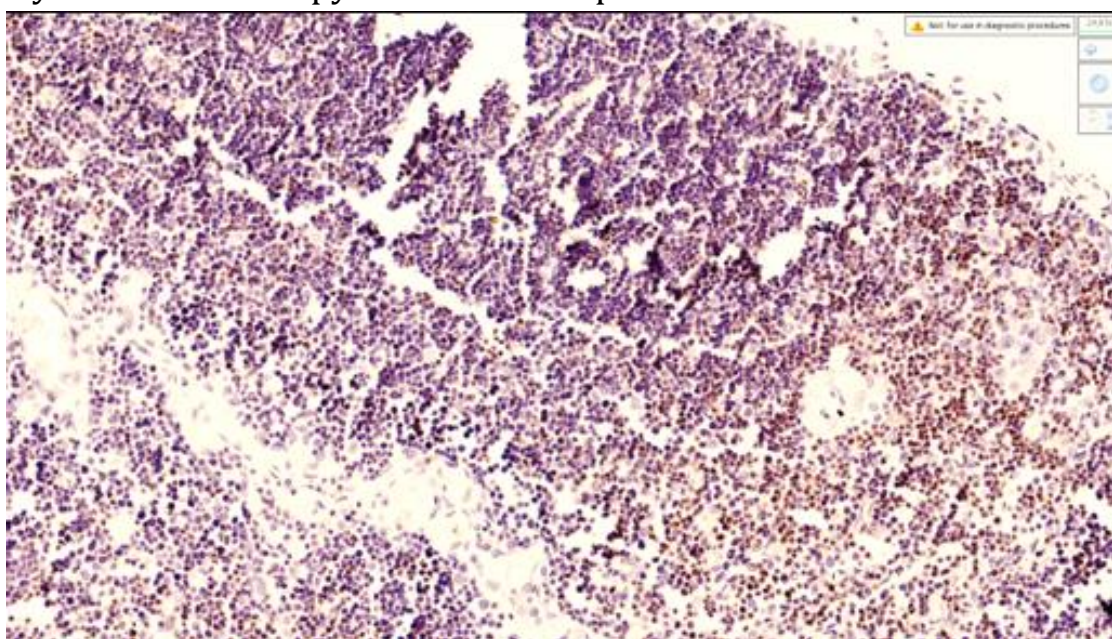


Рис. 5. Ткань тимуса новорожденного, погибшего на 7-й день раннего неонатального периода. Умеренно положительная экспрессия маркера CD4 в ткани тимуса. QuPath-0.4.0.ink. Программа использовалась для сканирования и определения уровня экспрессии. Экспрессированные клетки имеют темно-бурый цвет. Окраска Dab хромогенный. Увел.X40.

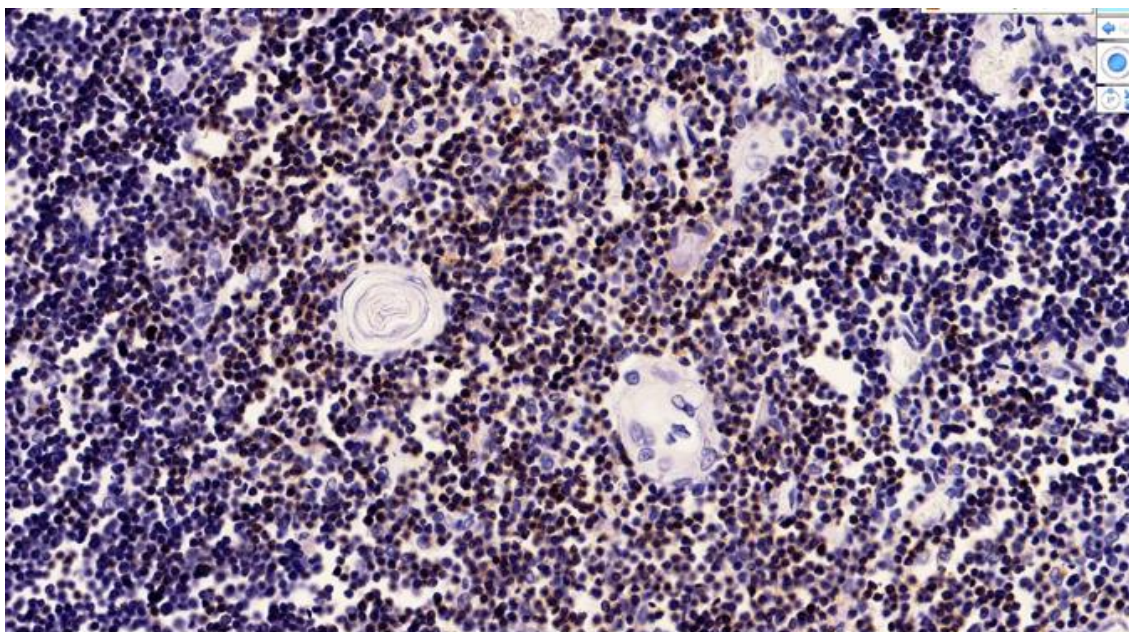


Рис. 6. Ткань тимуса новорожденного, погибшего на 5-й день раннего неонатального периода. Низкоуровневая положительная экспрессия маркера CD 4 в ткани тимуса. Экспрессированные клетки имеют темно-бурый цвет. Окраска Dab хромогенный. Увел.X40.

Выводы. Следовательно, низкая положительная экспрессия маркеров CD3+ и CD4+ в ткани тимуса свидетельствует о нарушении дифференцировки лимфоцитов CD3+ и низком образовании Т-хелперов с маркерами CD4+, что свидетельствует об иммунодефиците и резком снижении устойчивости к инфекции. Это подтвердилось в нашем исследовании, где в клиническом анамнезе детей, умерших в раннем неонатальном периоде, на фоне преэклампсии и эклампсии матерей, погибших из-за сепсиса и септицемии от инфекции в послеродовом периоде.

Список литературы:

1. Адайбаев Т.А. и др. Морфология вилочковой железы в раннем онтогенезе у белых крысят //Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета. – 2020. – Т. 20. – №. 9. – С. 154-156
2. Андриевская И.А. и др. Морфологическое строение вилочковой железы у новорожденных с врожденной цитомегаловирусной инфекцией //Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2018. – №. 69. – С. 64-69.
3. Бадьина О.С., Ровда Ю.И., Силантьева И.В., Миняйлова Н.Н., Шмулевич С.А., Бунина Е.Г. и др. Сонометрические параметры вилочковой железы у детей первых шести лет жизни, проживающих в сибирском регионе //Мать и Дитя в Кузбассе. - 2014. - № 2(57). - С. 153-158

4. Бреусенко Д.В., Димов И.Д., Клименко Е.С., Карелина Н.Р. Современные представления о морфологии тимуса // Педиатр. - 2017. - Т. 8. - № 5. - С. 91-95. doi: 10.17816/PED8591-95
5. Веремеенко Д. Остановить старение человека. Иммуитет начинает стареть уже в 12–14 лет / Д. Веремеенко. URL: [http: // nestarenie.ru / starenie- immuniteto.html](http://nestarenie.ru/starenie-immuniteto.html). 30.12.2014.
6. Григорьева Е. А., Григорьев С. В., Скаковский Э.Р. Морфология тимуса человека в раннем постнатальном периоде онтогенеза //Web of Scholar. – 2018. – Т. 2. – №. 5. – С. 11-15.
7. Дерябина С.С. и др. Ретроспективный анализ случаев первичных иммунодефицитов у детей с врожденными пороками сердца //Российский иммунологический журнал. – 2020. – Т. 23. – №. 4. – С. 505-514.
8. Зими́на И.В., Белова О.В., Торховская Т.И., Арион В.Я., Новоселецкая А.В., Киселева Н.М., Крючкова А.В., Иноземцев А.Н., Сергиенко В.И. Взаимосвязь тимуса и тимических пептидов с нервной и эндокринной системами // Иммунопатология, аллергология, инфектология, - 2015. - № 1. - С. 18-29.
9. Иванова Е. А. Современные представления о воздействии психоэмоционального стресса на органы иммунной системы (на примере пищеварительной системы крыс) // Академический журнал Западной Сибири. - 2014. - Т. 10, № 2(51). - С. 117.
10. Исраилов Р., Исоев Г., Нуманов К. Сепсис новорожденных и морфологическое состояние тимуса. //Журнал проблемы биологии и медицины. – 2016. - №3 (89). – С. 29–31.
11. Кварацхелия А.Г., Клочкова С.В., Никитюк Д.Б., Алексеева Н.Т. Морфологическая характеристика тимуса и селезенки при воздействии факторов различного происхождения // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2016. – Т. 5, № 3. – С.77-83
12. Коржавов Ш. и др. Антропометрические и физиологические особенности вилочковой железы у новорожденных и детей раннего возраста (обзор литературы) //Евразийский журнал медицинских и медицинских наук. – 2022. – №2.6. – С.118-130.
13. Ровда Ю.И., Ведерникова А.В., Силантьева И.В., Миняйлова Н.Н. Аспекты вилочковой железы (тимуса) детского возраста (часть I)// Мать и дитя в Кузбассе. - 2020. - №4. – С. 59-69.



14. Толстова Е.М., Зайцева О.В. Физиология и патология тимуса в детском возрасте // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2018. - Т. 97, № 6. - С. 166-172.
15. Geenen V. Presentation of neuroendocrine self in the thymus: a necessity for integrated evolution of the immune and neuroendocrine systems. //Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2012. - Vol. 1261, № 1. - P. 42-48.
16. Hirokawa K., Utsuyama M., Kikuchi Y. Trade off situation between thymus and growth hormone: age-related decline of growth hormone is a cause of thymic involution but favorable for elongation of lifespan. //Biogerontology. – 2016. - Vol. 17, №1. - P. 55-59
17. Lio C.W., Hsieh C.S. Becoming self-aware: the thymic education of regulatory T cells. //Curr. Opin. Immunol. – 2011. - №23(2). – P.213-219. doi: 10.1016/j.coi.2010.11.010.
18. Lins M.P., Vieira L.F. de A., Rosa A.A., Smaniotto S. Growth hormone in the presence of laminin modulates interaction of human thymic epithelial cells and thymocytes in vitro. //Biol. Res. – 2016. - Vol. 49, № 1, 37. <https://doi.org/10.1186/s40659-016-0097-0>.
19. Lins M.P., Viana I.M., Smaniotto S., Reis M.D. dos S. Interactions between thymic endothelial cells and thymocytes are influenced by growth hormone. //Growth Factors (Chur, Switzerland). – 2021. - Vol. 38, №3-4. - P. 1-12.
20. Majumdar S., Deobagkar-Lele M., Adiga V., Raghavan A., Wadhwa N., Ahmed S.M. et al. Differential susceptibility and maturation of thymocyte subsets during Salmonella Typhimurium infection: insights on the roles of glucocorticoids and Interferon-gamma. //Scientific Reports. – 2017. - (7). – 40793
21. Mendes-da-Cruz D.A., Lemos J.P., Passos G.A., Savino W. Abnormal T-Cell development in the thymus of non-obese diabetic mice: possible relationship with the pathogenesis of type 1 autoimmune diabetes. //Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2018. - Vol. 9, 381. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00381>.
22. Pérez A.R., Morrot A., Carvalho V.F., de Meis J., Savino W. Role of hormonal circuitry upon T cell development in chagas disease: possible implications on T cell dysfunctions. //Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2018. - Vol. 9, 334. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00334>.
23. Savino W., Mendes-da-Cruz D.A., Lepletier A., Dardenne M. Hormonal control of T-cell development in health and disease. //Nat. Rev. Endocrinol. – 2016. - Vol. 12, №2. - P. 77-89.



24. Sun D.P. et al. Thymic hyperplasia after chemotherapy in adults with mature B cell lymphoma and its influence on thymic output and CD4(+) T cells repopulation // Oncoimmunology. - 2016. - Vol. 18, № 5(5). - P. 1137417.
25. Tacconelli A., Farina A.R. and al. The alternative TrkaIII splice variant is expressed by murine and human thymus // J. Neuroimmunol. – 2007. - Feb;183(1-2). – P.151-61. doi: 10.1016/j.jneuroim