

## ВЛИЯНИЕ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ МАТЕРИ НА ФОРМИРОВАНИЕ ТИМУСА РЕБЕНКА

Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина

(г. Харьков)

Исследование проводится в рамках научно-исследовательской работы «Патоморфологические особенности формирования плода и новорожденного под влиянием патологии матери» (№ государственной регистрации 0110U001805).

**Вступление.** ВИЧ-инфекция относится к числу наиболее распространенных и опасных инфекций человека. Особую важность приобретает проблема инфицирования женщин детородного возраста с последующим внутриутробным инфицированием детей. Количество ВИЧ – инфицированных рожениц возрастает во многих странах мира и в том числе в Украине. Риск инфицирования плода, в настоящее время, составляет 15–25% [9]. Имеются данные, что 80-90% ВИЧ–инфицированных детей заражаются вертикальным путем [8]. Предполагается, что скорость прогрессии инфекции у детей зависит от подкласса полученного от матери вируса. Чем выше степень репликации вируса и образование синцития, тем быстрее развивается СПИД [10]. Развертывание клинической картины ВИЧ–инфекции у детей сопровождается присоединением пневмоцистоза, токсоплазмоза, криптококкоза. Летальный период у внутриутробно ВИЧ–инфицированных детей составляет в среднем 3–5 лет [1]. У ВИЧ–инфицированных детей развиваются изменения во всех системах организма, но прежде всего в иммунной и ЦНС [7]. Представляет особый интерес изучение тимуса, как центрального органа иммуногенеза у детей раннего возраста. Данные в литературе о морфологических изменениях тимуса у детей раннего возраста от ВИЧ–инфицированных матерей противоречивы и немногочисленны.

**Целью** настоящего исследования явилось выявление морфологических особенностей тимусов детей раннего возраста от ВИЧ-инфицированных матерей.

**Объект и методы исследования.** Материалом для исследования послужили умершие дети в возрасте от 6 месяцев до 5 лет от ВИЧ-инфицированных матерей. Материал собирался с 2008 по 2013 г. в Харьковском перинатальном центре, Одесском и Днепропетровском патологоанатомических бюро. Проведенные исследования полностью соответствуют законодательству Украины и отвечают

принципам Хельсинкской декларации прав человека, Конвенции Союза Европы относительно прав человека и биомедицины (подтверждено заключением комиссии по биоэтике, протокол №3, 2006 г).

Работа была проведена в соответствии с требованиями «Инструкции о проведении судебно-медицинской экспертизы» (приказ МОЗ Украины №6 от 17.01.1995), в соответствии с требованиями и нормами, типичным положением по вопросам этики МОЗ Украины № 690 от 23.09.2009 г.

В исследуемую группу были отобраны 11 случаев умерших детей в возрасте от 6 до 12 месяцев и 17 случаев, возраст которых колебался от 1 до 5 лет. Во всех случаях серологически подтверждена ВИЧ-инфекция и бактериологически – пневмоцистная пневмония. Для получения достоверных данных материал подбирался тщательно. Причиной смерти всех случаев явились легочно-сердечная недостаточность, отек головного мозга и полиорганная недостаточность. Группу сравнения составили 10 мертворожденных плодов, и 6 умерших новорожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, причиной смерти которых, явилась легочно-сердечная недостаточность. Оппортунистические инфекции в группе сравнения отсутствовали.

Тимусы измерялись и взвешивались. Вырезанные кусочки органа из разных долек подвергались стандартной парафиновой проводке, после чего изготавливались срезы толщиной 5-6 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону. Для определения степени зрелости и принадлежности лимфоцитов к той или иной субпопуляции проводили иммуногистохимическое исследование с МКА к CD3, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD7, CD38, CD22, Thy-1, поверхностным рецепторам к которым они экспрессируют (Novocastra Laboratories Ltd).

Препараты изучали в люминесцентном микроскопе ЛЮМАМ И2 с использованием светофильтров: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3.

Комплекс гистологических и морфометрических исследований проводился на микроскопе Olympus BX-41 с использованием программ Olympus DP-Soft (Version 3:1) и Microsoft Excel [3]. Плотность клеточных элементов подсчитывалась в 1мм<sup>2</sup>. Все цифровые данные обрабатывались

Таблиця 1

**Относительные объемы основных структурных компонентов и плотность клеток тимусов плодов и новорожденных при дисплазии с атрофией от ВИЧ- инфицированных матерей**

Относительные объемы основных структурных компонент ( $X \pm x'$ ) (%)					Плотность клеток (количество в 1 мм <sup>2</sup> )	
Группы	Кора	Мозговое вещество	Тельца Гассала	Строма	Кора	Мозговое вещество
Дисплазия с атрофией	26.28±0,69	36.22±2,13	4.88±0,29	32.56±2,44	7082± 250	4592±200

Таблиця 2

**Относительные объемы основных структурных компонентов и плотность клеток тимусов умерших детей в возрасте от 6 до 12 месяцев при дисплазии с атрофией от ВИЧ- инфицированных матерей**

Относительные объемы основных структурных компонент ( $X \pm x'$ ) (%)					Плотность клеток (количество в 1 мм <sup>2</sup> )	
Группы	Кора	Мозговое вещество	Тельца Гассала	Строма	Кора	Мозговое вещество
Дисплазия с атрофией	28,32±2,18*	39,97±2,94*	3,573±0,76*	28,13±2,55*	8718±245*	6011±215*

Примечание: \* P<0,05 – по сравнению с группой плодов и новорожденных от ВИЧ – инфицированных матерей.

Таблиця 3

**Относительные объемы основных структурных компонентов и плотность клеток тимусов умерших детей в возрасте старше 1 года при дисплазии с атрофией от ВИЧ- инфицированных матерей**

Относительные объемы основных структурных компонент ( $X \pm x'$ ) (%)					Плотность клеток (количество в 1 мм <sup>2</sup> )	
Группы	Кора	Мозговое вещество	Тельца Гассала	Строма	Кора	Мозговое вещество
Дисплазия с атрофией	37,51±2,16*	35,36±1,71	5,376±0,61*	21,78±1,21*	11405±306*	7347±185*

Примечание: \* P<0,05 – по сравнению с группой плодов и новорожденных от ВИЧ – инфицированных матерей.

методами вариационной статистики. При этом вычисляли среднюю арифметическую, степень дисперсии, среднеквадратическое отклонение, среднюю ошибку разницы, вероятность различия. Вероятность различия между двумя средними при малых выборках определяли по таблице Стьюдента с соблюдением условия (n1+n2-2) При определении степени вероятности допускали точность  $p < 0,05$ , что, как известно, соответствует  $P > 95,0\%$  [4].

**Результаты исследований и их обсуждение.**

Средняя масса тимуса в группе сравнения составила 12,06±2,26 г. Проведенные морфологические и иммуногистохимические исследования позволили обнаружить изменения в тимусе плодов и новорожденных от ВИЧ- инфицированных матерей, благодаря которым все случаи были разделены на 3 группы: 25 % – гиперплазия тимуса, 20 % – простая дисплазия и 55 % – дисплазия с выраженной атрофией тимуса.

Морфологически в тимусе при простой дисплазии определялись, мелкие дольки, окруженные широкими соединительнотканными перегородками. Края этих долек, как правило, были фестончатые, реже округло очерченные. Деление на корковую и мозговую зоны определялось с трудом. В мозговом веществе тимуса тимические тельца отсутствовали.

Наблюдалось резкое лимфоидное опустошение коры и мозгового вещества.

В тимусе с морфологической картиной дисплазии с атрофией, выявлялись мелкие дольки, окруженные жировой клетчаткой и массивными разрастаниями соединительной ткани с явлениями дезорганизации в виде фибриноидного набухания и фибриноидного некроза. Лимфоидный компонент, как и эпителиальный, в дольках выражен слабо. Тимоциты расположены во всех зонах неравномерно и представлены очень скудно.

В тимусе при гиперплазии, микроскопическая картина мало отличалась от физиологической нормы. Края долек фестончатые, с четкой границей слоев. Лимфоидный и эпителиальный компоненты в коре и мозговом веществе выражены сильнее, по сравнению с физиологической нормой.

Признаки дисплазии с атрофией имеются и в тимусе умерших детей в возрасте от 1 до 6 месяцев от ВИЧ-инфицированных матерей. Масса тимуса в среднем составила 19,5±2,12 г. Тимус этой группы характеризуются мелкими дольками с массивными разрастаниями соединительной ткани и выраженным лимфоидным опустошением всех структурно-функциональных зон.

**Относительные объемы основных клонов иммунных клеток в тимусах плодов и новорожденных, детей умерших в возрасте от 1 до 6 месяцев, от 6 до 12 месяцев и старше 1 года от ВИЧ–инфицированных матерей**

Группы сравнения	Относительные объемы основных клонов иммунных клеток ( $X \pm x$ ) (%)			
	Дисплазия с атрофией плоды и новорожденные	Дисплазия с атрофией от 1 до 6 месяцев	Дисплазия с атрофией от 6 до 12 месяцев	Дисплазия с атрофией старше 1 года месяцев
CD3	23,0±6,0	19,5±4,0	20,0±5,0	29,2±4,0
CD4+	16,0±4,0	13,0±3,5	15,0±4,0	25,0±3,0*
CD8+	9,0±1,5	6,0±1,7	8,0±1,5	11,0±2,5
CD4+/CD8+	1,77±0,26	2,16 ± 0,2	1,85 ± 0,15	3,18 ± 0,4*
CD7	90,0±24	90,0±8	85,0±5	75,0±5
CD38	86,0±22	86,0±6	81,0±4	72,0±4
Thy-1	10,0±3,0	8,5 ± 2,5	9,0 ± 3,5	11,0 ± 1,5
HLA-Dr	0,6±0,03	0,45±0,02*	0,5±0,04*	0,7±0,04*
ИЛ-7	0,9±0,01	0,49±0,01*	0,7±0,02*	2,8±0,1*
ИЛ-4	0,2±0,03	0,15±0,01*	0,17±0,02*	0,9 ± 0,01*

**Примечание:** \* $P < 0,05$  – по сравнению с группой плодов и новорожденных от ВИЧ – инфицированных матерей.

По сравнению с группой плодов и новорожденных от ВИЧ–инфицированных матерей, масса тимуса детей раннего возраста в среднем составила  $24,5 \pm 2,5$  г., что значительно превышает таковой показатель группы сравнения ( $p < 0,001$ ).

Микроскопически во всех тимусах умерших детей данной группы выявлена картина дисплазии с атрофией [2]. Тимусов с явлениями простой дисплазии и гиперплазии не обнаружили.

Тимусы, микроскопическая картина которых, соответствует дисплазии с атрофией, по сравнению с группой плодов и новорожденных от ВИЧ–инфицированных матерей, также имели очень мелкие дольки, окруженные жировой клетчаткой и массивными разрастаниями соединительной ткани. Отмечаются дольки, в которых обнаруживается картина инверсии слоев. Относительный объем коры у детей умерших в возрасте от 6 месяцев и старше постепенно увеличивается (табл. 2). Относительный объем мозгового вещества в тимусе у детей умерших в возрасте до 1 года проявляет тенденцию к увеличению (табл. 2), а после года, к уменьшению (табл. 3). Обратная зависимость выявляется в отношении относительного объема телец вилочковой железы. Сосудисто-стромальный компонент тимуса с возрастом замещается другими зонами, о чем свидетельствует постепенное уменьшение его относительного объема (табл. 1, 2, 3). Плотность тимоцитов коры и мозгового вещества, увеличивается ( $p < 0,05$ ) (табл. 1, 2, 3). Эпителиальный компонент субкапсулярной зоны ( $510,0 \pm 6,2$  экз.  $\text{мм}^2$ ), коры ( $450,0 \pm 2,7$  экз.  $\text{мм}^2$ ) и мозгового вещества ( $320,0 \pm 3,2$  экз.  $\text{мм}^2$ ), тимуса данной группы представлен в большем объеме, по сравнению с тимусом плодов и новорожденных от ВИЧ – инфицированных матерей и группой умерших детей в возрасте до 6 месяцев от ВИЧ–инфицированных матерей.

Иммуногистохимически в тимусе умерших детей до года наблюдается уменьшение относительного объема всех зрелых форм тимоцитов, экспрессирующих антигены CD3, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>. У детей умерших в возрасте старше одного года от ВИЧ–инфицированных матерей происходит увеличение относительного объема всех форм зрелых тимоцитов. Относительный объем тимоцитов разной степени зрелости экспрессирующие маркеры CD7 и CD38 уменьшается. Относительный объем молодых форм тимоцитов с Thy-1 антигеном, у детей умерших в раннем возрасте от ВИЧ – инфицированных матерей, превышает таковой показатель группы сравнения ( $p > 0,05$ ). В исследуемой группе иммунорегуляторный индекс CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> выше, по сравнению с тимусом при дисплазии с атрофией у плодов и новорожденных от ВИЧ–инфицированных матерей ( $p < 0,05$ ). Кроме того, отмечается достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение относительного объема ИЛ-4 продуцентов. Относительный объем ИЛ-7 продуцирующих клеток в тимусе умерших детей в возрасте от 6 месяцев до 1 года увеличивается и превышает таковой показатель в тимусе умерших детей от 1 до 6 месяцев. В тимусе умерших детей старше 1 года относительный объем ИЛ-7 продуцентов еще больше проявляет тенденцию к увеличению и превышает показатель группы сравнения ( $p < 0,001$ ). Относительный объем эпителиоцитов, экспрессирующих HLA-Dr – антиген, в группе детей умерших в возрасте старше 1 года выше, чем в группе сравнения. Все вышеуказанные цифровые данные представлены в табл. 4.

Морфологически, в этой группе, по сравнению с мертворожденными и новорожденными от ВИЧ–инфицированных матерей, выявлено усиление функциональной активности тимуса. О чем свидетельствует уменьшение относительного объема стромы и увеличение относительного объема лимфоидного

компонента [2]. В последнем нарастает популяция зрелых (CD3, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>), незрелых (Thy-1) и пролиферирующих (CD7, CD38) тимоцитов. Повидимому, этому способствовало стремительное увеличение относительного объема факторов стимулирующих пролиферацию и дифференцировку тимоцитов, которыми являются ИЛ-4 и ИЛ-7 продуценты [6]. Увеличение количества ИЛ-7 способствует повышению относительного объема молодых тимоцитов, так как они приобретают устойчивость к индукторам апоптоза [5].

### Выводы.

1. По сравнению с группой мертворожденных и новорожденных от ВИЧ – инфицированных матерей у детей в возрасте от 6 месяцев до 5 лет гистологическая картина тимуса более однородна и представлена дисплазией с атрофией.

2. В тимусе детей умерших в раннем возрасте от ВИЧ- инфицированных матерей, по сравнению с ВИЧ – инфицированными мертворожденными и новорожденными выявляются морфологические и иммуногистохимические признаки повышения функциональной активности как со стороны лимфоидного, так и эпителиального компонентов, проявляющиеся повышением плотности клеток, усилением их пролиферативной активности и степенью созревания.

3. Несмотря на признаки усиления функциональной активности тимуса детей раннего возраста от ВИЧ – инфицированных матерей, степень возрастания активности реакции иммунной системы оказалась недостаточной для обеспечения иммунного гомеостаза совместимого с жизнью.

**Перспективы дальнейших исследований.** Перспективным является изучение тимуса детей более позднего возраста матери которых ВИЧ-инфицированы.

## Литература

1. Змушко Е. И. ВИЧ-инфекция: руководство для врачей / Е. И. Змушко, Е. С. Белозеров. – С. Пб., 2010. – С. 138.
2. Ивановская Т. Е. Патология тимуса / Т. Е. Ивановская, О. В. Зайратьянц, Л. В. Леонова, И. Н. Волощук. – С. Пб. : Сотис, 1996. – 263 с.
3. Лапач С. К. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. К. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. :МОРИОН, 2011. – 408 с.
4. Сергиенко В. И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева. – М. : ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 2009. – 256 с.
5. Серова Л. Д. Иммунология старения / Л. Д. Серова // Мед. вестн. – 2011. – № 27. – С. 13-16.
6. Смирнов В. С. Иммунодефицитные состояния / В. С. Смирнов, И. С. Фрейдлин. – СПб. : Фолиант, 2000. – С. 21-22.
7. Цинзерлинг В. А. Перинатальная патология при ВИЧ-инфекции / В. А. Цинзерлинг, О. Л. Красногорская, М. В. Васильева // Архив патологии. – 2009. – № 5. – С. 48-51.
8. Fowler M. G. Overview of perinatal infection / M. G. Fowler, M. F. Rogers // J. Nutr. – 2010. – P. 2602-2607.
9. Newell M. L. Prevention of mother-to child transmission of HIV-1 transmission / M. L. Newell, G. Gray, Y. J. Bryson // AIDS. – 2012. – Vol. 11, Suppl. A. – P. 165-172.
10. Scarlatti G. Transmission of human immunodeficiency virus type 1 (HIV – 1) from mothers to child correlates with viral phenotype / G. Scarlatti // Virology. – 2013. – P. 624-629.

УДК 616. 438 – 053. 1/. 31 – 02: 618. 3 – 06:

### ВПЛИВ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ МАТЕРІ НА ФОРМУВАННЯ ТИМУСА ДИТИНИ

Шерстюк С. О., Проценко О. С., Ремньова Н. О.

**Резюме.** З метою виявлення морфологічних особливостей центрального органу імуногенезу – тимуса у дітей померлих у віці від 6 місяців до 5 років від ВІЛ – інфікованих матерів, були вивчені лімфоїдний та епітеліальний компоненти органу з використанням гістологічних, імуногістохімічних і морфометричних методів. Виявлено морфологічні ознаки порушення функціональної активності як з боку лімфоїдного, так і епітеліального компонентів, які проявляються посиленням проліферативної активності обох компонентів з накопиченням незрілих пре-Т-лімфоцитів (Thy-1), а також клітин різного ступеня зрілості (CD7, CD38).

**Ключові слова:** тимус, ВІЛ-інфекція, діти.

УДК 616. 438 – 053. 1/. 31 – 02: 618. 3 – 06:

### ВЛИЯНИЕ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ МАТЕРИ НА ФОРМИРОВАНИЕ ТИМУСА РЕБЕНКА

Шерстюк С. А., Проценко Е. С., Ремнева Н. А.

**Резюме.** С целью выявления морфологических особенностей центрального органа иммуногенеза – тимуса у детей умерших в возрасте от 6 месяцев до 5 лет от ВИЧ- инфицированных матерей, были изучены лимфоидный и эпителиальный компоненты органа с использованием гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов. Выявлены морфологические признаки нарушения функциональной активности как со стороны лимфоидного, так и эпителиального компонентов, проявляющиеся усилением пролиферативной активности обоих компонентов с накоплением незрелых пре-Т-лимфоцитов (Thy-1), а также клеток различной степени зрелости (CD7, CD38).

**Ключевые слова:** тимус, ВИЧ-инфекция, дети.

UDC 616. 438 – 053. 1/. 31 – 02: 618. 3 – 06:

### **Influence of HIV Infection of Mother on Forming of Child's Thymus**

**Cherstiuk S. A., Protsenko O. S., Remniova N. A.**

**Abstract.** HIV infection are among the most widespread and dangerous of human infections. Of particular importance got by a problem infection of women of childbearing age followed by intrauterine infection by children. Number of HIV – infected pregnant women is increasing in many countries, including Ukraine. The risk of fetal infection, now is 15-25%. There are data that 80-90% of HIV-infected children infected by vertically.

The aim of this study was to reveal the morphological features of thymuses infants from HIV – infected mothers.

The materials for the study were children who died at the age of 6 months to 5 years of HIV-infected mothers. In all cases of serologically been confirmed HIV infection and bacteriological – Pneumocystis pneumonia. Thymus tissue sections stained with hematoxylin and eosin, pikrofuksinom by Wan-Gieson. To determine the degree of ripeness and accessories lymphocytes to one or another subpopulation performed immunohistochemical study with MKA to CD3, CD4 +, CD8 +, CD7, CD38, CD22, Thy-1 surface receptors to whom they expressing (Novocastra Laboratories Ltd).

Morphologically in thymic dysplasia determined in a simple, small lobules, surrounded by broad connective tissue septa. The edges of the lobes, were generally scalloped, rarely rounded delineated. Division into cortical and medullary zones was determined with difficulty. In the thymic medulla of thymuses corpuscles missing. Observed a sharp lymphoid depletion of the cortex and medulla. In the thymus, with the morphological picture of dysplasia with atrophy, revealed small lobules surrounded with fatty tissue and massive proliferation of connective tissue with symptoms of disorganization in the form of fibrinoid of swelling and fibrinoid necrosis. Lymphoid component, as well as epithelial, in the lobules is weak. Thymocytes are located in all zones of uneven and presented very poorly. In the thymus hyperplasia, microscopic picture of a little different from the physiological norm. Scalloped edge of the lobules, with a clear boundary layers. Lymphoid and epithelial components in the cortex and medulla were more pronounced as compared to the physiological norm. Immunohistochemistry in the thymus of children who died before 1 year ago there has been a decrease in the relative volume of of the mature forms thymocytes expressing the antigens CD3, CD4 +, CD8 +. The children who died over the age of one year from HIV – infected mothers there is an increase the relative volume of all forms of mature thymocytes. The relative volume of thymocytes different degrees of maturity expressing the CD7 markers, CD38 and decreases. The relative volume of young forms of thymocytes with Thy-1 antigen in children who died at an early age from HIV – infected mothers exceeds that index the comparison group.

**Conclusions.** Compared with the group of stillbirths and of infants of HIV – infected mothers of children aged 6 months to 5 years histological picture of the thymus is more homogeneous and is represented dysplasia with atrophy. In the thymus of children who died at an early age from HIV – infected women compared to HIV – infected stillborn and newborns are identified morphological and functional immunohistochemical signs of increased activity both on the part lymphoid and epithelial components, manifested by increased cell density, increased their proliferative activity and the degree of maturation. Despite signs of increasing the functional activity of the thymus children of early age from HIV – infected mothers, the degree increase in activity of the immune system response was insufficient to ensure immune homeostasis compatible with life.

**Keywords:** thymus, HIV infection, children.

*Рецензент – проф. Старченко І. І.*

*Стаття надійшла 18. 08. 2014 р.*