

Б. П. ТОКИН и А. Г. ФИЛАТОВА

## НОВЫЕ ФАКТЫ ДЛЯ СУЖДЕНИЯ О ЗНАЧЕНИИ АМНИОТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

(Представлено академиком К. М. Быковым 29 V 1953)

Предпринятая нашей лабораторией разработка проблемы иммунитета зародышей, как главы сравнительной эмбриологии, продиктовала необходимость всесторонних исследований соотношения формообразовательных процессов и иммунологических свойств живого вещества и клеток на ранних стадиях развития организмов (2, 3). Мы исходим из предположений о том, что возникновение и смена иммунологических свойств в ходе развития организма не есть какой-то обособленный процесс, а являются одной из сторон общих процессов эмбрионального развития процессов формообразования. Эмбриологам и иммунологам предстоит сделать очень многое для выяснения вопросов о защитных «механизмах» эмбрионов на тех стадиях эмбрионального развития, в отношении которых понятия «антиген-антитело» неприменимы и когда, вероятно, отсутствуют фагоцитарные и воспалительные реакции. Эмбриология со своим сравнительным методом, следуя научному наследию И. Мечникова, может и должна совместно с иммунологией изучать иммунологическое значение различных структур и функций, возникающих и сменяющихся в ходе онтогенеза животных: защитное значение оболочек яиц, значение различных внезародышевых образований у разных животных, иммунологическое и формообразовательное значение различных возникающих и изменяющихся в ходе эмбрионального развития жидкостей (жидкость полости Бэра, полости бластулы и т. д.).

Г. П. Коротковой, Л. С. Приезжевой и Х. Н. Гирфановой выяснены факты о бактерицидных и протистоцидных свойствах «белка» куриного яйца (1, 2). Нами обнаружено, что жидкость бластодермического пупырька («полости бластоциста») у кролика обладает явно выраженными бактерицидными свойствами.

В этом сообщении мы излагаем основные данные, полученные нами при изучении амниотической жидкости ряда млекопитающих. Несмотря на интересы эмбриологии, ветеринарии, акушерства и гинекологии, вопрос о значении «околоплодных вод» разработан еще недостаточно, особенно в иммунологическом и сравнительно-эмбриологическом аспекте. Совершенно неясен вопрос о формообразовательном значении околоплодных вод — этой меняющейся в ходе развития зародыша «внутренней среде» для него. Недостаточно исследован и вопрос об иммунологическом значении амниотической жидкости. Утверждают, что околоплодные воды бактерицидными свойствами не обладают. Однако вопрос этот совершенно не исследован сравнительно-эмбриологически, а в отношении человеческого плода изучен крайне недостаточно. Если при изучении бактерицидных свойств околоплодных вод получены отрицательные результаты на тех или иных бактериях, по многим причинам рискованно говорить о том, что никакого иммунологического значения они не имеют. Амниотическая жидкость не обязательно должна убивать именно те бактерии, ко-

торами заинтересовался исследователь; иммунологическое значение могут иметь и не регистрируемые при данной технике опытов слабые бактериостатические свойства. Нельзя не учитывать далее, что различные жидкости при взятии их из организма для опытов могут очень быстро химически изменяться. Об этом говорит, в частности, огромный экспериментальный материал по так называемым «антибиотикам» и фитонцидам. Эти соображения, кстати, применимы и к исследованиям различных жидкостей животных организмов (пот, моча и т. д.).

Ниже мы приводим полученные нами в ходе исследования формообразовательного и иммунологического значения амниотической жидкости млекопитающих данные о бактерицидных свойствах ее\*.

### Экспериментальные исследования

Нами изучена амниотическая жидкость у белой крысы (13, 17, 18 и 19-е дни беременности), у крольчихи породы шиншилла (16, 18, 20 и 22-е дни беременности), у кошки (5—6—7 недель беременности и в 8 случаях 58—60-е дни), у морской свинки (41—57—58 и 59-е дни беременности). Наконец, в двух случаях у нас имелась возможность изучить околоплодные воды у женщин (в одном случае жидкость получена при родах, в другом при кесаревом сечении на 4½ мес. беременности). Напомним нормальные сроки продолжительности беременности: у крыс 21 день, у мышей 19, у кроликов 30, у морских свинок 62 и, наконец, у кошки 63 дня.

**Методика.** Удаляется волосяной покров на брюхе. С соблюдением асептики послойно вскрывается брюшная полость. Матка выводится на раневую поверхность. Шприцем емкостью 1 см<sup>3</sup>, градуированным на сотые доли куб. сантиметра, делается пункция рогов матки. Наружный диаметр иглы — не более 1½ мм. Для пункции выбирается участок, где нет крупных сосудов. Амниотическая жидкость используется для микробиологических исследований тотчас после взятия ее. У всех изученных животных амниотическая жидкость слегка желтоватого цвета, прозрачная. На более ранних стадиях беременности амниотическая жидкость слегка тягуча, как бы застывает при взятии ее из организма, желеобразная (это наблюдается у крольчих на 10—16-й день беременности). Жидкость мышей и крыс очень тягуча, и взятие ее в определенных количествах описанным выше способом требует достаточной опытности. Для излагаемых ниже микробиологических исследований требуется около 1—1½ см<sup>3</sup> жидкости. В опытах с крысами для микробиологических исследований можно получить достаточное количество амниотической жидкости от одной самки, однако надо использовать полость амниона 5—6 эмбрионов. Для эмбриологов представляет интерес тот факт, что взятие амниотической жидкости, во всяком случае у кроликов, начиная с 10-го дня беременности не влияет на дальнейшее развитие беременности.

Испытание бактерицидных свойств производилось «контактным» методом: на 3 капли амниотической жидкости бралась одна капля бактериальной культуры. Культура эмульгировалась или в физиологическом растворе или в бульоне. Эмульсия готовилась по стандарту — в 1 см<sup>3</sup> эмульсии было 100 миллионов микробных тел. Через определенные интервалы из пробирки со «смесью» амниотической жидкости и культуры бактерий делались высевы на плотную среду (тотчас, через 30 мин., через 1—2—3 часа, а в некоторых случаях и через 24 часа). Между посевами пробирки сохранялись в термостате при оптимальной для роста данных микробов температуре. Каждый опыт ставился в двукратной повторности. Использовались почвенные бактерии, патогенные для человека (главным образом, представители колитифозного семейства) и фитопатогенные. Кон-

\* Микробиологическая часть работы проведена при самом активном участии Е. М. Данини, которой мы приносим искреннюю благодарность.

тролем служила та же культура, эмульгированная (соответственно) в физиологическом растворе или бульоне. Результаты опытов учитывались через 18 час. термостатного содержания и в случае, если рост микробов не наблюдался, производился дополнительный высев на плотную среду для контроля стерильности посева. Наблюдения за чашками велись от 3 до 5 дней.

Результаты опытов с морскими свинками. Исследовалась амниотическая жидкость у 15 свинок. В 9 случаях на тех или иных бактериях был обнаружен бактерицидный эффект. Наиболее чувствительной к действию амниотической жидкости оказалась в двух случаях *Vac. megatherium*. При высеве через 30 мин. наблюдалось резкое

Таблица 1

Влияние амниотической жидкости кроликов на выживаемость некоторых бактерий

№ кроликов	Срок беременности в днях	Бактериальные тест-объекты									Результаты
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1	10	+	+	+	-	-	-	-	-	-	Бактерицидн. действие в отнош. культуры Григорьева—Шига, Флекснера и брюшногиф. палочки через 3 часа
2	10	+	-	+	-	-	+	-	-	-	Бактерицидн. действие в отнош. испытуемых штаммов через 4 часа
3	11	+	+	+	-	-	-	-	-	-	Бактерицидн. действие в отнош. дизентер. палочки Флекснера и брюшногиф. через 2 часа и дизентер. палочки Григорьева—Шига через 4 часа
4	11	+	+	+	-	-	-	-	-	-	Бактерицидн. действие в отнош. дизентер. палочки Флекснера и брюшногиф. через 2 часа и дизентер. палочки Григорьева—Шига через 5 час.
5	12	+	-	+	-	-	-	-	-	-	Бактерицидн. действие в отнош. испытуемых штаммов через 18 час.
6	16	+	-	+	+	-	+	-	-	-	Бактерицидн. действие в отнош. палочки Григорьева—Шига через 18 час. и рост единичных колоний
7	16	+	-	+	+	+	+	-	+	-	Бактерицидн. действие в отнош. брюшногиф. палочки при 4-час. экспозиции
8	16	+	-	+	+	-	+	-	-	-	Отрицательный результат
9	18	+	-	+	-	-	+	-	-	-	Бактерицидн. эффект. в отнош. золотист. стафилококка при 18-час. экспозиции
10	20	+	-	+	-	-	+	-	-	-	Отрицательный результат
11	22	+	-	+	+	-	+	+	+	-	Бактерицидн. действие в отнош. дизентер. палочки Григорьева—Шига через 18 час.
12	23	+	-	-	-	-	-	-	-	+	При 18-час. экспозиции рост единичных колоний палочки Григорьева—Шига
13	25	+	-	+	-	-	+	-	-	-	Отрицательный результат

Условные обозначения: + испытанные в данном опыте бактериальные культуры; — неиспытанные культуры.

1—*Bact. dys. Shiga*, 2—*Bact. dys. Flexn.*, 3—*Bact. typhi abd.*, 4—*Bact. par. „B“*, 5—*Bact. coli*, 6—*St. aureus*, 7—*Bact. ent. Breslau*, 8—*Vac. megath.*, 9—*Micr. lysodeict.*

снижение количества жизнеспособных клеток этого микроба, а через час и последующие экспозиции наблюдалась стерильная картина. Само собой разумеется, контроль был нормален: отмечался неизменно сливной рост. В 7 случаях (при взятии амниотической жидкости от 7 самок) был обнаружен бактерицидный эффект в отношении культуры дизентерийной палочки Григорьева — Шига. В одном случае — с золотистым стафилококком. Так, при изучении амниотической жидкости, взятой от самки 3-недельной беременности, высеv бактерий Григорьева — Шига через час давал резкое снижение количества колоний, через 4 часа — рост лишь единичных колоний, а через сутки наблюдалась стерильная картина. В контроле — сливной рост.

Результаты опытов с кроликами. Исследована амниотическая жидкость, полученная от 13 самок. В 9 случаях обнаружено бактерицидное действие в отношении микроба Григорьева — Шига и в отдельных случаях — с другими бактериями (дизентерийная палочка Флекснера, брюшнотифозная, *Vac. megatherium* и др.). Результаты опытов сведены в табл. 1.

Результаты опытов с кошками. Наименее бактерицидной в наших опытах оказалась амниотическая жидкость у кошек. При изучении жидкости, взятой от 16 кошек, только в 5 случаях получен положительный результат. Конечно, на этом основании нельзя еще делать строгие выводы, так как требуется изучение динамики бактерицидных свойств амниотической жидкости в ходе беременности. С другой стороны, выбор бактерий для испытания был по необходимости эмпирический. Бактерицидный эффект обнаружен в 5 случаях с дизентерийной палочкой Григорьева — Шига.

Результаты опытов с крысами. Из 8 опытов (с 8 самками) только в двух случаях обнаружен бактерицидный эффект, причем из испытанных бактерий (дизентерийная палочка Григорьева — Шига, брюшнотифозная, золотистый стафилококк и *Vac. megatherium*) только с дизентерийной палочкой получен отчетливый положительный результат. Например, уже через 2 часа контакта культуры дизентерийной палочки Григорьева — Шига с амниотической жидкостью, полученной от самки на 18-й день беременности, высеvы давали стерильную картину.

Проведены нами и разведывательные опыты с околоплодной жидкостью, взятой от женщин (сроки беременности указаны выше). При испытании околоплодных вод на дизентерийную палочку Григорьева — Шига, брюшнотифозную, паратифозную «В», кишечную, Бреслау, на золотистого стафилококка, фитопатогенную бактерию цитрипутеале и спороносную палочку мегатериум получены отрицательные результаты.

Таким образом, в результате проведенных опытов можно сделать следующие выводы.

1. Амниотическая жидкость у крыс, кроликов, морских свинок и кошек обладает бактерицидными свойствами.

2. Необходимо продолжить исследования, по крайней мере, в следующих направлениях: а) изучить динамику бактерицидных свойств амниотической жидкости в ходе эмбрионального развития; б) исследовать бактерицидное действие амниотической жидкости на бактерии, патогенные для данного вида животных; в) необходимы иные методы исследования, например введение бактериальных культур в полость амниона.

Ленинградский государственный университет  
им. А. А. Жданова и

Институт экспериментальной медицины  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
10 IV 1953

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> Х. Н. Гирфанова, ДАН, 68, № 5 и 6 (1949). <sup>2</sup> Г. П. Короткова, Л. С. Приезжева, Вестн. ЛГУ, № 7 (1952). <sup>3</sup> Б. П. Токин, Усп. совр. биол., № 4 (1952).