

УДК- 616—085.37+617—089.843

Л. Н. МАРКАРЯН, Н. Д. ВАРТАЗАРЯН

МОРФОЛОГИЯ И ГИСТОХИМИЯ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ И СЕЛЕЗЕНКИ БЕЛЫХ МЫШЕЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ АНТИЛИМФОЦИТАРНОЙ ИММУННОЙ СЫВОРОТКИ

Среди существующих методов получения искусственной иммунологической толерантности одним из наиболее перспективных является метод применения антилимфоцитарной иммунной сыворотки (АЛС) [7, 8, 11, 13, 14]. Последняя, оказывая специфическое действие на лимфоциты, несущие фактор переноса, вызывает иммунологическую толерантность путем угнетения реакции замедленного типа, что является главным в механизме отторжения трансплантата.

В литературе имеется ряд исследований по изучению механизма действия АЛС на организм [9, 10, 12]. В то же время морфо-гистохимические сдвиги, характеризующие иммунологические и метаболические процессы в лимфоидной ткани и селезенке, до сих пор еще мало изучены.

Мы провели морфо-гистохимическое исследование селезенки и лимфатических узлов белых мышей в условиях ежедневного введения больших доз антилимфоцитарной иммунной сыворотки.

Объектом исследования служили 37 белых нелинейных мышей, которые ежедневно в течение одного месяца получали внутривенно по 0,2 мл кроличью антимышинную антилимфоцитарную сыворотку (КААЛС). Использовалась сыворотка в титрах 1:600 и 1:800 по РСК.

У подопытных мышей исследовались селезенка, мезентериальные и подмышечные лимфоузлы. С этой целью кусочки тканей фиксировались в жидкости Карнуа и заливались парафином. Парафиновые срезы окрашивались гематоксилин-эозином по Ван Гизону, толудиновым синим для выявления кислых мукополисахаридов, ШИК-реакцией для выявления нейтральных полисахаридов, по Фельгену—на ДНК и по Брассе—на РНК (контроль с рибонуклеазой).

Результаты гистологических и гистохимических методов исследований показали, что с 3-го дня меняется гистоструктура ткани лимфоузлов, которая выражается в полном исчезновении лимфоидных фолликулов, гиперплазией ретикулярных клеток, макрофагальной и умеренной плазмоклеточной реакцией.

Одновременно отмечается расширение как периферических, так и центральных синусов, которые наполняются большим количеством макрофагов. При PAS-реакции цитоплазма этих клеток окрашивается в малиново-красный цвет, что свидетельствует о наличии нейтральных полисахаридов. Указанные клетки выявляются также в лимфоидной ткани, где клеточные элементы имеют диффузное распределение с наличием многих дистрофизированных форм. По сравнению с контрольными животными отмечается увеличение количества клеток с явлениями пикноза и кариорексиса ядер. Последнее особенно хорошо выявляется при реакции по Фельгену для выявления ДНК, при которой обнаруживаются множественные деформированные, компактные ядра и Фельген-положительные зерна в межклеточном веществе.

Наряду с увеличением количества PAS-положительного материала в цитоплазме макрофагов, часто выявляются клетки, богатые цитоплазматической РНК, однако у большинства из них наблюдаются изменения ядерных субстанций в виде кариопикноза, гиперхроматоза и кариолиза. Наряду с этим, выявлялись клетки с заметной пиронинофилией цитоплазмы и ядрышек, что свидетельствует об увеличении РНК и активации их белково-синтетической функции. Контрольная реакция с РНК-азой подтверждает специфическую окраску. На фоне таких изменений часто выявлялись митозы.

Аналогичные сдвиги нами были выявлены в селезенке, что сопровождалось исчезновением фолликулов вокруг центральной артерии, накоплением белковых масс в межклеточном веществе и заметной плазмоклеточной метаплазией ткани. Гистохимические реакции на амилоид отрицательные. При этом отмечались резко выраженные изменения со стороны ядерных субстанций клеток. Особенно часто наблюдалось явление аутофагии эритроцитов, что в поздних сроках выявлялось в виде накопления большого количества клеток, содержащих гемосидерин. Аналогичные изменения в селезенке описал также Ю. А. Барштейн [1] в первые дни после введения АЦС в дозе 0,3 мл. В последующие дни в селезенке он наблюдал полнокровие и некоторую гиперплазию лимфоидных и ретикулярных элементов, что совпадает с нашими данными.

Указанные сдвиги, свидетельствующие о цитопатогенном действии КААЛС, достигали своего максимума на 10—12-й день ежедневного введения сыворотки. В эти сроки отмечалось резкое обеднение клеточными элементами ткани лимфоузла и селезенки. Наряду с разрушенными и измененными клетками здесь выявлялась выраженная плазмоклеточная метаплазия ткани. При этом отмечалось увеличение количества больших клеток, богатых РНК, с хорошо выраженной пиронинофилией. У таких животных в синусах лимфоузлов и селезенки клеточные элементы выявлялись редко при наличии множественных полей, содержащих аморфные, бесструктурные белковые массы.

С третьей недели при ежедневном введении иммунной КААЛС происходит постепенное восстановление клеточного состава лимфоузлов и

селезенки. Одновременно наблюдается заметное увеличение числа митозов. В то же время плазматические клетки, богатые цитоплазматической РНК, а также макрофаги выявляются в большом количестве. Здесь обнаруживаются множественные поврежденные клетки, в основном среди малых и средних лимфоцитов. В связи с гиперплазией лимфоидных и ретикулярных элементов фолликулы постепенно становятся более четкими и во многих случаях структура селезенки восстанавливается.

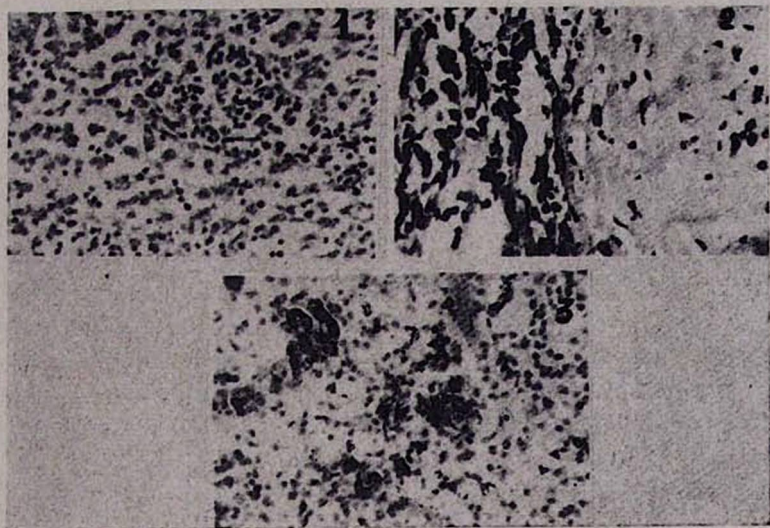


Рис. 1. Гиперплазия ретикулярных клеток с накоплением макрофагов в синусе лимфоузла, богатых PAS-позитивным материалом. 5-й день введения сыворотки. PAS-реакция. Об.×40; ок.×10.

Рис. 2. Резкое обеднение ткани селезенки клеточными элементами с накоплением белковых масс. 12-й день введения сыворотки. Гематоксилин-эозин. Об.×40; ок.×10.

Рис. 3. Аутофагия эритроцитов. Накопление пигмента гемосидерина в селезенке. 33-й день введения сыворотки. PAS-реакция. Об.×90; ок.×10.

Следует отметить, что у животных, вскрытых в более поздние сроки введения сыворотки, изменения имели однотипный характер и совершенно не отличались от таковых, выявленных в течение третьей недели введения КААЛС. Такое постепенное восстановление клеток лимфоидной ткани говорит о тенденции к восстановлению и стабилизации функциональных элементов, утраченных в течение первой недели.

На основании приведенных данных можно считать, что относительная иммунологическая толерантность, полученная при ежедневном введении КААЛС экспериментальным животным, является результатом специфического цитотоксического воздействия сыворотки на лимфоидную ткань. Это воздействие носит стадийный характер и выражается

морфологическими и гистохимическими изменениями в ткани селезенки и лимфоузлов.

Изменения, выявляемые в I стадии (первая и частично вторая неделя), больше всего обусловлены повреждающим действием КААЛС, что проявляется пикнозом, кариорексисом ядер средних и малых лимфоцитов с появлением множественных Фельген-положительных зерен в межнуклеарном веществе.

Что касается сохранившихся функционально активных клеток, у которых выявляется большое количество РНК как в цитоплазме, так и в ядрышках, то их количество несравненно меньше, однако несколько больше, чем у контрольных животных, не получивших КААЛС. Такое различие в клеточных элементах, на наш взгляд, является вполне закономерным с физиологической точки зрения, т. к. вводимая нами цитотоксическая сыворотка не могла в одинаковой степени повредить все лимфоидные клетки, находящиеся в различных фазах своего развития.

Следует отметить, что в этой стадии воздействия цитотоксической сыворотки одновременно наблюдаются признаки стимуляции функции лимфоидных элементов. На фоне резкого нарушения гистоструктуры селезенки и лимфоузлов (отсутствие лимфоидных фолликулов и диффузное распределение клеточных элементов) отмечается гиперплазия ретикулярных клеток, выраженная макрофагальная реакция и накопление большого количества цитохромных клеток. При этом отмечается заметная митотическая активность.

Кроме того, как было показано выше, наблюдалось накопление PAS-позитивного материала в цитоплазме макрофагов. Факт увеличения количества полисахаридов в клетке, который, однако, сопровождался заметными структурными изменениями со стороны ядерного аппарата, дает основание считать, что накопление в цитоплазме ШИК-позитивного материала является результатом их неполной утилизации. Последнее, по-видимому, обуславливается извращением обмена веществ в клетке под воздействием цитотоксической сыворотки, что приводит к излишнему накоплению полисахаридов.

Таким образом, первая стадия отличается наличием двух параллельных процессов: повреждения и восстановлений путем стимуляции регенерации клеток. Однако стимулирующее воздействие сыворотки отходит на второй план, так как усиленная пролиферация, приводящая к выработке активных клеточных элементов, сопровождается одновременной выработкой огромного количества дистрофизированных и в функциональном отношении неподноценных клеток.

II стадия, как стадия стабилизации компенсаторных реакций организма, характеризуется усилением процессов пролиферации и восстановлением клеточных элементов лимфоидной ткани в условиях постоянного воздействия цитотоксической сыворотки. При этом на фоне измененных и поврежденных лимфоцитов, гиперхроматоза и пикноза ядерных структур отмечается выраженная плазмноклеточная метаплазия

ткани с уменьшением количества макрофагов в лимфатических синусах. Однако их количество в ткани продолжает оставаться на высоких цифрах. Эти сдвиги определяются в течение всего периода введения сыворотки, что является результатом стабилизации уравновешенного состояния деструктивных и восстановительных процессов.

Вполне возможно, что действие КААЛС на лимфоидную ткань, в первую очередь, реализуется путем повреждения ядерного аппарата клеток. Такое воздействие, возможно, обусловлено тем, что вводимая сыворотка в основном содержит антинуклеарные антитела, т. к. она получена иммунизацией животных лимфоцитами, у которых ядро составляет большую и основную массу клетки.

Нельзя исключить также тот факт, что в увеличении количества полисахаридов цитоплазмы определенную роль играет также вводимая сыворотка, которая, как чужеродный белок, поглощаясь макрофагами, еще больше усугубляет нарушенный внутриклеточный обмен.

Можно полагать, что явления пролиферации клеточных элементов обусловлены не только стимулирующим воздействием продуктов клеточного распада [2, 6]. Здесь, по-видимому, определенное значение имеет также непосредственное действие КААЛС на лимфоидную ткань, приводящее к трансформации ретикулярных клеток в макрофаги и плазмocyты [3—5]. Это предположение обосновывается тем, что при введении больших доз, кроме специфического воздействия на лимфоциты, увеличивается возможность также неспецифического действия сыворотки на ретикулярные клетки.

Описанные сдвиги, на наш взгляд, являются результатом неспецифической реакции лимфоидной ткани на повреждение, которое можно расценивать как мобилизацию защитно-приспособительных механизмов организма с целью сохранения гомеостатических констант. Как физиологическая реакция адаптации она вызывается для захватывания и нейтрализации цитотоксической сыворотки, что приводит к усиленной пролиферации клеток. Однако макрофаги также повреждаются, что проявляется нарушением внутриклеточного обмена веществ.

Таким образом, можно считать, что основным механизмом, приводящим к понижению функции лимфоидной ткани (орган иммунитета) и индукции относительной иммунологической толерантности, является повреждение ядерных субстанций клеток лимфоидного ряда.

В ы в о д ы

1. Ежедневное внутрибрюшинное введение КААЛС в дозе 0,2 мл в течение месяца у белых мышей вызывает состояние относительной искусственной иммунологической толерантности путем специфического воздействия на ткань лимфатических узлов и селезенки. При этом действие сыворотки, в первую очередь, реализуется путем повреждения ядерного аппарата лимфоидных клеток.

2. Гистоморфологические и гистохимические сдвиги проявляются с третьего дня и определяются стадийностью.

В первой стадии превалирует процесс повреждения, приводящий к обеднению ткани лимфоцитами и появлению множественных Фельген-положительных зерен в межклеточном веществе. Указанные сдвиги сопровождаются пролиферацией ретикулярных клеток и макрофагов с признаками нарушения внутриклеточного углеводного обмена.

Вторая стадия наступает в конце второй недели ежедневного введения сыворотки и характеризуется стабилизацией компенсаторных реакций организма, когда усиление процессов пролиферации приводит к восстановлению клеточных элементов лимфоидной ткани.

3. Заметная плазмоклеточная метаплазия ткани лимфоузлов и селезенки с накоплением большого количества крупных клеток, богатых цитоплазматической и ядрышковой РНК, свидетельствует о состоянии активного иммунологического процесса, наступающего под постоянным воздействием иммунной КААЛС и продуктов клеточного распада.

Отдел иммунологии института кардиологии
Министерства здравоохранения АрмССР,
Кафедра патанатомии
Ереванского медицинского института

Поступило 3/VI 1969 г.

Լ. Ն. ՄԱՐԿԱՐՅԱՆ, Ն. Դ. ՎԱՐԴԱԶԱՐՅԱՆ

ՍՊԻՏԱԿ ՄԿՆԵՐԻ ԼԻՄՖԱՏԻԿ ՀԱՆԳՈՒՅՑՆԵՐԻ ԵՎ ՓԱՅՄԱՂԻ
ՄՈՐՖՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՈՒ ՀԻՍՏՈՔԻՄԻԱԿԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
ՀԱԿԱԼԻՄՖՈՑԻՏԱՅԻՆ ԻՄՈՒՆ ՇԻՃՈՒԿԻ ԵՐԿԱՐԱՏԵՎ ՆԵՐԱՐԿՄԱՆ
ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

37 սպիտակ մկների մոտ ներորոշվածային սրակվել է հակալիմֆոցիտային իմուն շիճուկ՝ օրական 0,2 մլ դոզայով: Պարզվել է, որ շիճուկն ունի անմիջական ազդեցություն լիմֆատիկ հանգույցների ու փայծաղի բջիջների կորիզների վրա, որոնց վնասման հետևանքով միջբջջային նյութում կուտակվում են ֆելգեն դրական կորիզային մասնիկներ:

Շիճուկի ազդեցությունն ունի 2 էտապ՝

1) Բջիջների վնասման և ռետիկուլյար էլեմենտների պրոլիֆերացիայի ստադիա:

2) Օրգանիզմի կոմպենսատոր ռեակցիայի կայունության էտապ, երբ սկսած 2-րդ շաբաթվա վերջից տեղի է ունենում լիմֆոդ հյուսվածքի բջիջների քանակի վերականգնում:

Լիմֆոդ հյուսվածքի նկատելի պլազմատիկ բջջային մետապլազիան վկայում է ակտիվ իմունոլոգիական պրոցեսների մասին, որոնք ընթանում են իմուն շիճուկի և բջիջների քայքայված պրոդուկտների ազդեցության տակ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Барштейн Ю. А. В кн.: Цитотоксины в современной медицине, IV. Киев, 1967, стр. 31.
2. Намятышева А. М. и Федоров Н. А. Цитотоксины в современной медицине, III. Киев, 1966, стр. 11.
3. Рапопорт Я. Л. Архив патологии, 1957, 19, 3, стр. 17.
4. Федоров Н. А. и Кипервассер Е. М. В кн.: Проблемы реактивности в патологии. М., 1968, стр. 25.
5. Фриденштейн А. Я. Успехи современной биологии, 1963, 55, 3, стр. 428.
6. Эстрин И. М. В кн.: Цитотоксины в современной медицине, IV. Киев, 1967, стр. 20.
7. Brendel W., Pichlmayr R. Dtsch. Med. Wschr., 1967, 92, 12, 549.
8. Guttman R. D. et al. J. Exp. Med., 1967, 126, 1099.
9. Leland E. R., Russel L. K., Deiter K., Clarence H. J. Urol., 1967, 97, 5, 804.
10. Levey R. H., Medawar P. B. Ann. N—Y. Acad. Sciens, 1966, 129, 1, 164.
11. Monaco A. P., Wood M. L., Russell P. S. Ann. N—Y. Acad. Sciens, 1966, 129, 1, 190.
12. Nagava H., Sieker H. O. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1966, 121, 3, 722.
13. Woodruff M. F., Anderson N. A. Natnre, 1963, 200, 702.