

В. М. АРУТЮНЯН, Г. А. ЕГАНЯН, Г. А. МИНАСЯН

О СОСТОЯНИИ «Т» И «В» СИСТЕМ ИММУНИТЕТА
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АМИЛОИДОЗЕ

С помощью комплекса иммунологических, иммуногистохимических методик на экспериментальной модели казеинового амилоидоза у кроликов изучена реакция Т и В систем иммунитета на введение амилоидгена и появление аномального белка амилоида в организме. Полученные данные свидетельствуют о решающем значении в патогенезе амилоидоза процессов угнетения Т системы иммунитета и развития толерантности к основному белку амилоиду. Полученные данные иммунологической перестройки в Т и В системах иммунитета при амилоидозе позволяют наметить определенные перспективы иммунотерапии данного заболевания.

Известно, что иммунные реакции с амилоидогеном, веществом, вызывающим амилоидоз, не играют ведущей роли в его развитии [3, 5]. В последние годы появились работы, в которых показано, что независимо от характера иммунологического ответа на амилоидоген (иммуногенез или состояние толерантности) он вызывает существенные изменения в Т и В системах иммунитета [1, 2, 4, 7, 8]. Однако имеющиеся данные по этому вопросу противоречивы. Характер нарушений в Т и В системах иммунитета при амилоидозе до конца не раскрыт. В настоящем исследовании ставится цель—изучить морфофункциональные изменения в Т и В системах иммунитета в динамике при экспериментальном амилоидозе и выяснить, как отражается присутствие амилоида на иммунологическом статусе организма в различных фазах амилоидогенеза.

Материал и методика

В опытах 43 кроликам породы Шиншилла 3 раза в неделю вводили подкожно 10% взвесь казеина (чистого по Гаммерстену) по 8 мл до забоя животного. Животным контрольной группы (9 кроликов) в те же сроки вводили физиологический раствор. На 20, 40, 60 и 80-й дни опыта определяли содержание иммуноглобулина G (IgG) в сыворотке крови по Манчини, ставили реакцию бластной трансформации (РБТ) лимфоцитов крови по классическому методу Гиршгорна. В качестве митогена применяли фитогемагглютинин (ФГА) фирмы Дифко (США). Для иммуноморфологического исследования брали селезенку, лимфатические узлы, вилочковую железу, печень, почки, надпочечники. Применяемые окраски срезов—гематоксилин-эозин, красный конго по Пухлеру, пикрофуксин по ван Гизону, метиловый зеленый—пиронин по Браше, а также PAS реакция (контроль с амилазой). Степень амилоидоза и площадь фолликулов селезенки определяли стереометрически. С помощью прямого иммунолюминесцентного метода определяли количество IgG-продуцирующих клеток в селезенке. Исползованные в работе сыворотки получены из Института эпидемиологии и микробиологии АМН СССР им. Н. Ф. Гамалея.

Результаты исследований показали, что на 20-й день опыта у всех подопытных животных амилоидоз отсутствовал. Отмечалось некоторое повышение содержания IgG в сыворотке крови до 1660 ± 162 мг% (в контроле— 1450 ± 78 мг%) и снижение показателей РБТ до 15 ± 1 отн. % (в контроле— $40 \pm 4,4$ отн. %). В селезенке обнаружены явления плазматизации и пиронинофилии клеток зародышевых центров по периферии фолликулов, а также в красной пульпе. Там же встречаются клетки с PAS-положительными гранулами в цитоплазме. В лимфатических узлах выражена пиронинофилия клеток фолликулов и мягкотных шнуров, в последних выявляются клетки с PAS-положительными гранулами в цитоплазме. В печени отмечены лимфогистиоцитарные инфильтраты в портальных трактах, увеличение числа звездчатых эндотелиоцитов вдоль синусоидов. В почке выявлены очаговые периваскулярные лимфогистиоцитарные инфильтраты. В вилочковой железе обнаружены умеренно выраженное утолщение междольковых прослоек соединительной ткани, атрофия отдельных долек. При иммунолюминесцентном исследовании в зонах пиронинофилии и плазматизации указанных органов найдена фиксация γ -глобулина и IgG в цитоплазме многих клеток (рис. 1 а). Повышению содержания IgG в сыворотке крови на 20-й день опыта соответствовало статистически значимое увеличение количества клеток селезенки, фиксирующих IgG в цитоплазме $62 \pm 6,3$ полей зр./100 кл. (в контроле $40 \pm 5,7$, рис. 2 а). Снижение показателей РБТ сопровождалось увеличением площади фолликулов селезенки до $45,5 \pm 1,7$ отн. % (в контроле— $40,8 \pm 1,4$ отн. %).

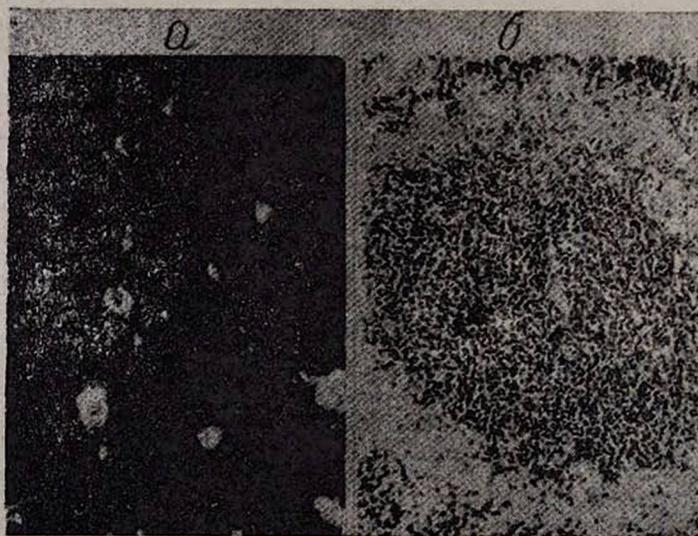


Рис. 1. Иммуногистохимическая характеристика экспериментального амилоидоза: а) фиксация IgG в цитоплазме клеток красной пульпы селезенки, прямой метод Кунса, $\times 320$; б) отложение амилоида по периферии фолликулов селезенки, окраска красным конго, $\times 80$.

На 40-й день опыта амилоидоз развился у 6 из 11 опытных животных. Первые отложения амилоида появляются по периферии фолликулов селезенки, по ходу синусоидов печени, прямых сосудов и канальцев пирамид почек (рис. 1 б). Содержание IgG в сыворотке крови снижалось по сравнению с предыдущей и контрольной группами. У животных с амилоидозом это снижение выражено более значительно, чем у животных без амилоидоза (до 408 ± 69 и 975 ± 138 мг% соответственно, $P < 0,01$). Обнаружено дальнейшее снижение показателей РБТ в подгруппе животных без амилоидоза до $9,7 \pm 0,25$ отн.%. В подгруппе животных с амилоидозом это снижение недостоверно. Разница между показателями РБТ у животных с амилоидозом и без амилоидоза к 40-му дню опыта равнялась 3,3% ($P < 0,05$). У животных без амилоидоза параллельно со снижением содержания IgG в сыворотке крови в селезенке наблюдалось уменьшение количества клеток до $107 \pm 6,2$ полей зр./100 кл., фиксирующих IgG ($P < 0,01$, рис. 2 а). Снижению показателей РБТ соответствовало статистически значимое уменьшение площади фолликулов селезенки до $27,6 \pm 3,9$ отн. % (рис. 2 б).

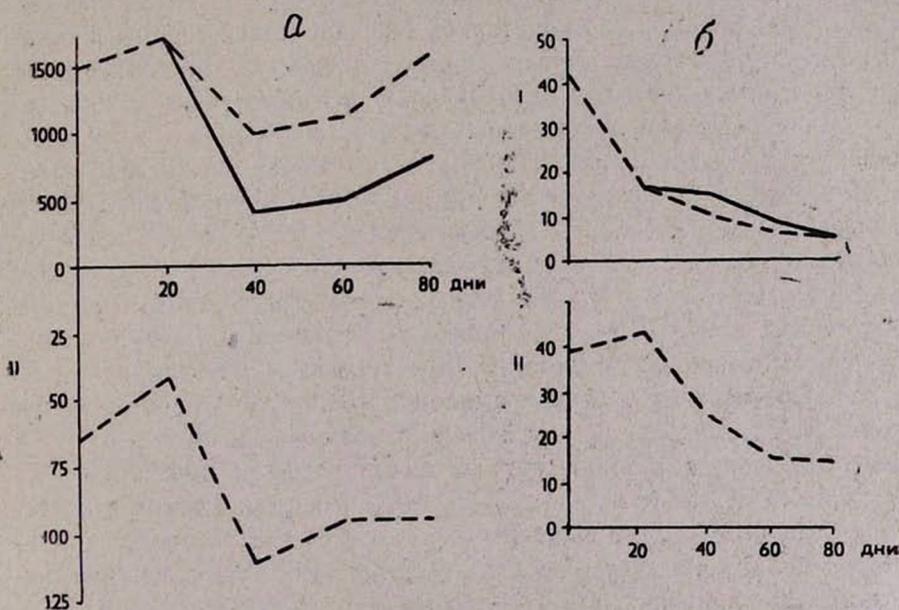


Рис. 2. а) Содержание IgG в сыворотке крови (I) и количество клеток, продуцирующих IgG в селезенке (II) у животных опытной группы. б) Показатели РБТ лимфоцитов крови (I) и площади фолликулов селезенки (II) у животных опытной группы, — с амилоидозом, ---- без амилоидоза.

На 60-й день опыта амилоидоз развился у 5 из 9 животных. Наблюдалась некоторая тенденция к повышению в сыворотке крови IgG, причем разница в содержании IgG у животных с амилоидозом и без него оставалась статистически значимой ($P < 0,05$). Имело место дальнейшее снижение показателей РБТ по сравнению с предыдущим сроком исследования до $8,5 \pm 1,6$ у животных с амилоидозом и до $6,7 \pm 2$ отн.% без него, при этом разница в показателях РБТ в обеих подгруппах становилась недостоверной. Существенных изменений в содержании IgG

в сыворотке, как и в количестве клеток селезенки, фиксирующих IgG в цитоплазме, не отмечалось (рис. 2 а). Параллельно с дальнейшим снижением РБТ наблюдается уменьшение площади фолликулов селезенки до $15,8 \pm 1,7$ отн. % ($P < 0,05$, рис. 2 б).

На 80-й день опыта амилоидоз развился у 8 из 10 опытных животных. Содержание IgG в сыворотке крови животных без амилоидоза и со слабо выраженным амилоидозом нормализовалось, а у животных с выраженным амилоидозом по сравнению с предыдущей группой изменилось незначительно. Наблюдалось дальнейшее снижение показателей РБТ до $5,1 \pm 0,7$ в подгруппе с амилоидозом и до $4,5 \pm 1,1$ отн. % в подгруппе без амилоидоза, причем разница между показателями РБТ почти стиралась. Количество клеток селезенки, фиксирующих IgG в цитоплазме, изменялось незначительно, однако отмечалось дальнейшее уменьшение площади фолликулов селезенки (рис. 2 а, б).

Полученные данные свидетельствуют о том, что в преамилоидной фазе имеет место активация В-лимфоцитарной и ретикулоэндотелиальной систем (РЭС). Морфологически она проявляется выраженной пролиферацией ретикулярных, лимфоидных клеток с последующей трансформацией последних в плазматические в селезенке и лимфатических узлах и очаговой лимфогистиоцитарной инфильтрацией стромы в печени и почках. Описанные морфологические изменения сопровождаются увеличением числа клеток, продуцирующих IgG в селезенке, и повышением уровня IgG в сыворотке крови. На фоне активации В-лимфоцитарной системы и элементов РЭС отмечается резкое снижение показателей РБТ лимфоцитов крови на ФГА. С появлением же амилоида в органах наблюдается снижение показателей как клеточного, так и гуморального иммунитета. Более высокие показатели РБТ у животных с амилоидозом по сравнению с животными без амилоидоза в начале амилоидной фазы свидетельствуют об оживлении клеточных иммунных реакций при развитии амилоидоза, что мы связываем с антигенной специфичностью основного белка амилоида [6]. С прогрессированием амилоидоза происходит дальнейшее снижение показателей РБТ и уменьшение площади фолликулов селезенки, причем разница между показателями РБТ у животных с амилоидозом и без амилоидоза стирается. Мы расцениваем этот факт как проявление толерантности к аномальному белку амилоиду в поздние сроки опыта. Таким образом, одной из главных причин накопления амилоида в тканях может быть иммунологическая толерантность к антигенам специфического белка амилоида.

Хотя вопросы лечения амилоидоза не являются предметом обсуждения в данной работе, нам хотелось бы отметить, что намечаются определенные перспективы иммунотерапии данного заболевания: избирательная иммуностимуляция Т системы иммунитета в обеих фазах, иммунодепрессия В-системы иммунитета в преамилоидной фазе, отмена иммунологической толерантности к антигенам фибриллярного белка амилоида в амилоидной фазе болезни.

ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ԱՄԻՆՈՒԴՈՋԻ ԺԱՄԱՆԱԿ T և B ԻՄՈՒՆ
ՀԱՄԱԿԱՐԳԵՐԻ ՎԻՃԱԿԸ

Մի շարք իմունոլոգիական և իմունոհիստոքիմիական մեթոդների օգնությամբ հետազոտվել են T և B լիմֆոցիտար համակարգերի փոփոխությունները փորձարարական ամիլոիդոզով ճագարների մոտ:

Պարզաբանված են վերոհիշյալ համակարգերի պատասխան ռեակցիան ամիլոիդոզին (կազեինի) և ամոլիոզի անոմալ սպիտակուցի նկատմամբ: Ստացված տվյալների հիման վրա կարելի է ասել, որ ամիլոիդոզի սպիտակուցի մեջ մեծ դեր են խաղում լիմֆոցիտար համակարգի ընկճումը և ամիլոիդի հիմնական սպիտակուցի նկատմամբ տոլերանտ վիճակի զարգացումը:

Վերոհիշյալ փաստը թույլ է տալիս նշելու այս հիվանդության իմունոթերապիայի որոշակի հեռանկարներ:

V. M. HAROUTYUNIAN, G. A. YEGANIAN, H. A. MINASSIAN

ON THE STATE OF T AND B IMMUNITY SYSTEMS IN
EXPERIMENTAL AMYLOIDOSIS

By means of the complex of immunological, immunohistochemical methods on the experimental model of caseic amyloidosis in rabbits it has been studied the reaction of T and B immunity systems on the injection of amyloidogen and appearance of anomalous protein of amyloidosis in the organism.

The data obtained testify to the significance of the immunity systems inhibiting process and development of tolerance towards the main protein in pathogenesis of this pathology. The observed immunologic shifts in T and B immunity systems in amyloidosis allow to find definite perspectives in immunotherapy of this disease.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Айвазян А. А., Симосян А. Т. В кн.: Материалы I съезда терапевтов Армении. Ереван, 1974, стр. 3.
2. Мухин Н. А., Виноградова О. М., Серов В. В., Сура В. В., Хасабов Н. Н. Тер. архив, 1979, т. 51, 10, стр. 33.
3. Рукосуев В. С. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1972, 9, стр. 111.
4. Хасабов Н. Н., Мухин Н. А., Сура В. В., Осипова И. Н., Варшавский В. А., Чезгаев В. А. Тер. архив, 1978, т. 50, 2, стр. 115.
5. Cathcart E. S., Mullarkey M., Cohen A. S. Immunology, 1971, 20, 1001.
6. Franklin E. C., Lavie G., Zucker-Franklin D. Ric. clin. e lab., 1980, 10, 1, 1.
7. Sven B. J. Exp. Med., 1975, 132, 1564.
8. Wolgethan J. R., Cathcart E. S. Arthritis and Rheum., 1980, 23, 6. 765.