

Д. А. АГАРОНОВА, М. Б. АВЕТИКЯН, Э. И. ГАСПАРЯН, С. А. БАЙБУРТЯН

## РОЛЬ ОКОЛОЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ В ФОРМИРОВАНИИ ПОВЫШЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА

(сообщение II)

Изучены особенности формирования повышенной чувствительности замедленного типа к туберкулину в условиях гипофункции околощитовидных желез. Использовался ряд современных тестов клеточного иммунитета в сочетании их с изучением иммуно-морфологических сдвигов в тимусе и лимфатических узлах. Полученные данные свидетельствуют о неоднозначном эффекте клеточных реакций при экспериментальном гипопаратиреозе.

Ранее проведенными исследованиями было показано, что на 19—25-е дни после сенсibilизации крыс полным адьювантом Фрейнда реакция повышенной чувствительности замедленного типа (ПЧЗТ) к туберкулину у паратиреопривных и контрольных животных проявляется однотипно [1]. Только один показатель ПЧЗТ—реакция бласттрансформации стимулированных туберкулином лимфоцитов—несколько подавлена у крыс с гипофункцией околощитовидных желез (ОЩЖ).

В настоящей работе приводятся данные иммуно-морфологических исследований, характеризующих особенности формирования ПЧЗТ у паратиреопривных крыс в укороченные сроки после сенсibilизации. Модель гипопаратиреоза на белых крысах-самцах, определение уровня  $Ca^{2+}$  в сыворотке крови и сенсibilизация полным адьювантом осуществлялась, как в предыдущих исследованиях [1].

### Материал и методы

Крысы были разделены на 4 группы: опытную и три контрольные. В I группу были объединены паратиреопривные крысы, во II—крысы с произвольно коагулированными участками щитовидной железы (ЩЖ), в III—ложнооперированные и в IV группу—только сенсibilизированные животные.

В первой серии опытов крысы сенсibilизировались за три дня до операции, во второй—операция и сенсibilизация производились одновременно.

На 7-й день после сенсibilизации в подушечку правой задней лапки вводился аллерген (0,1 мл препарата PPD), а в левую (контрольную) 0,1 мл растворителя PPD. Объем лапок замерялся до введения препарата и перед забоем—через 48 часов. Крысы забивались под эфирным наркозом. Тимус и подколенные лимфоузлы брались для гистологического изучения. Фиксация производилась в жидкости Карнуа с последующей заливкой в парафин. Срезы окрашивались гематоксилин-эозином и пиронином по Браше на ацетатном буфере (рН 5,0). Контроль—0,1% рибонуклеазы, 30 мин, при 37°C. Наряду с качественной оценкой изучаемых органов в корковом, паракортикальном и мозговом слоях лимфоузлов проведен подсчет числа плазмобластов и плазмочитов на каждую сотню клеточных элементов. Счет произво-

дился в 10 полях зрения (10×40) с последующим выведением средней арифметической.

Для постановки реакций бласттрансформации (РБТЛ) и торможения миграции лейкоцитов (РТМ) перед забоем у животных бралась кровь из аксиллярной вены. Лейкоцитарная масса выделялась по несколько модифицированному нами методу Л. Н. Маркарян [3]. Выход мононуклеаров составлял 95—98%. В таких же пределах колебался процент жизнеспособных клеток.

При постановке РБТЛ в культуральную среду (среда 199+15% бычьей сыворотки) вносилось до  $1 \times 10^6$  клеток/мл. Митогеном служил препарат РРД (80 мг/мл). Учет реакции производился после 72-часовой инкубации в термостате при 37°C.

РТМ ставилась в агарозе по методике Clausen [5] в модификации Э. В. Гюллинг с соавт. [2]. В качестве аллергена использовалась вакцина ВСГ. Расстояние миграции клеток от края луночки определялось через 18 часов с помощью микрометра при увеличении 7×20. Статистическая обработка материала проведена путем определения критерия достоверности по Стьюденту.

### Результаты и обсуждение

Полученные данные суммированы в таблице. Выявлено, что независимо от временного сочетания оперативного вмешательства и сенсибилизации, судя по результатам лапочной пробы, у животных всех групп возникало состояние повышенной чувствительности к туберкулину. По тесту же РТМ прослеживалась отчетливая тенденция уменьшения индекса миграции по группам животных в зависимости от характера оперативного вмешательства. Так, если по сравнению с неоперированными крысами в группе ложнооперированных животных индекс миграции оказался несколько сниженным ( $P > 0,05$ ), а у крыс с коагулированными участками щитовидной железы (ЩЖ) торможение миграции лимфоцитов приблизилось к достоверному в пределах 95% вероятности ( $P > 0,05$ ), то у опытной группы паратиреопривных животных эта разница становится статистически достоверной ( $P < 0,05$ ). В то же время спонтанная РБТЛ у паратиреопривных крыс и контрольных животных II группы была выражена слабее по сравнению с животными IV группы. Особенно была заторможена реакция лимфоцитов на специфический митоген у крыс с гипофункцией околотщитовидной железы (ОЩЖ) ( $P < 0,05$ ).

При гистологическом изучении тимусов было выявлено, что независимо от экспериментальной группы у всех животных четкость строения органа сохранена, дольки разграничены соединительной тканью, несколько отечного вида.

Тимоциты коркового слоя плотно упакованы, однако толщина его у паратиреопривных крыс значительно уже, а мозговой слой в долях соответственно сравнительно расширен и представлен пластинами гиперплазированных ретикулоэпителиальных клеток. Количество телец Гассалья и их размеры у оперированных, особенно у паратиреопривных крыс, увеличено (рис. 1а). В препаратах, окрашенных по Браше, вы-

являются единичные пиронин-положительные макрофаги и значительное количество плазматических клеток. Местом преимущественной локализации последних является граница коркового и мозгового слоев, где они располагаются отдельными группами. Плазматические клетки видны также по ходу сосудов в отечной междольковой ткани, особенно в опытной группе.

Таблица

Некоторые показатели ПЧЗТ при недостаточности ОЩЖ

Группа животных	Характер вмешательства	Лапочная проба		РТМ	РБТЛ	
		M ± m			M ± m	
		контроль	PPD	M ± m	спонтанная	стимулирован.
I	Коагуляция ОЩЖ	0,25	0,95	0,27	7,6	10,5
		0,04	0,3	0,027	1,88	1,96
II	Коагуляция участков ЩЖ	0,3	0,82	0,39	10,4	14,4
		0,03	0,1	0,085	1,22	1,9
III	Ложная операция	0,33	0,94	0,63	10,2	15,7
		0,14	0,22	0,28	1,4	1,9
IV	Сенсибилизация	0,43	0,96	1,1	13,8	18,1
		0,08	0,12	0,3	1,56	1,97

Представляет интерес реакция со стороны тучных клеток: в тимусах только сенсибилизированных крыс они практически отсутствуют, у ложнооперированных животных в междольковой соединительной ткани тучные клетки обнаруживаются в значительном количестве, а в тимусах паратиреопривных крыс наряду с увеличением количества тучных клеток в междольковой соединительной ткани наблюдается активная дегрануляция значительной части их (рис. 1 б). В целом состояние тимуса свидетельствует о наличии нерезко выраженной акцентальной атрофии у оперированных животных, но особенно у паратиреопривных крыс. В лимфоузлах последних на фоне резкого сужения коркового и почти полного отсутствия паракортикального слоев выявлено значительное расширение мозгового слоя (рис. 1 в). Несколько слабее этот процесс представлен у ложнооперированных контрольных крыс. Для мозгового слоя лимфатических узлов животных всех групп характерна резко выраженная плазмоклеточная метаплазия с расширением синусоидов и обилием в них клеток плазматического ряда: число их на сто клеточных элементов в среднем составляло  $90,6 \pm 1,36$  (рис. 1 г). Представляют интерес сравнительные количественные показатели плазмоклеточной метаплазии в паракортикальном слое лимфатических узлов правой (опытной) и левой (контрольной) лапок у паратиреопривных и только сенсибилизированных крыс:  $11,6 \pm 0,98 - 20,5 \pm 1,66$  ( $P < 0,01$ ) и  $10,0 \pm 1,94 - 15,3 \pm 2,3$  ( $P > 0,05$ ) соответственно.

Полученные данные свидетельствуют о четкой взаимосвязи процесса атрофии тимусзависимой зоны лимфатических узлов и ослабления в ней плазмоклеточной метаплазии с явлением акцентальной атрофии тимуса. Это особенно выражено у паратиреопривных крыс. Моз-

говой слой, т. е. В-зависимая зона лимфатических узлов на сенсibiliзацию и последующее введение аллергена реагирует почти однотипно.

Анализ экспериментального материала и иммуно-морфологические параллели показывают, что если само по себе оперативное вмешательство несколько изменяет иммунологическую реактивность животных, делая их более чувствительными к сенсibiliзации, то паратиреоидэктомия усугубляет этот процесс. Об этом свидетельствуют: интенсивность РТМ, т. е. появление фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов (ЛИФ), образующегося только у животных с ярко выраженной ПЧЗТ [4], и обнаружение только в тимусах паратиреопривных

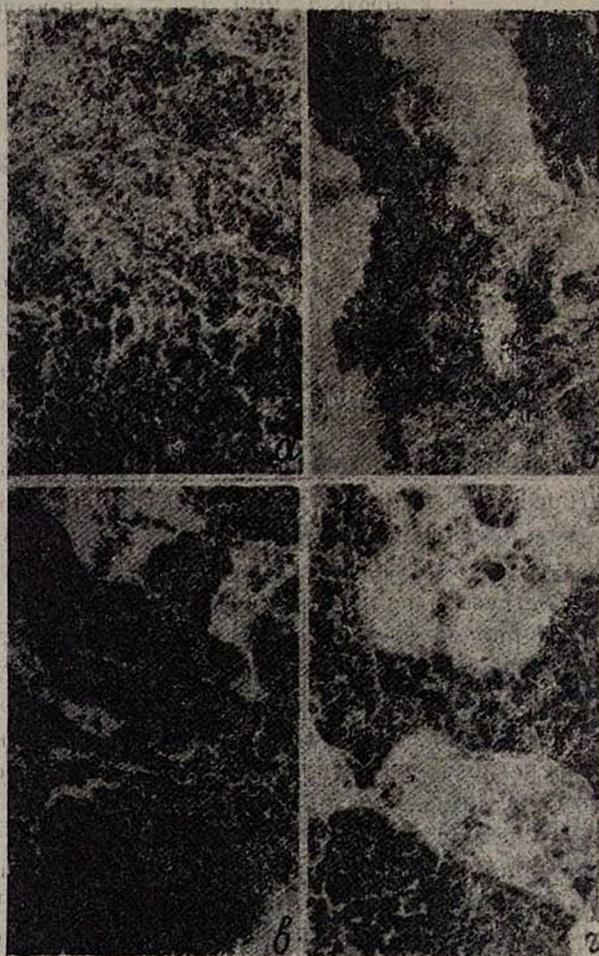


Рис. 1. Тимус паратиреопривного животного. а. Расширение мозгового слоя. Выраженная гиперплазия ретикулоэпителиальных клеток. Гематоксилин-эозин. б. Выраженная дегрануляция тучных клеток в междольковой соединительной ткани. Пиронин по Браше. Иммерсия. в. Лимфоузел паратиреопривного животного. Значительное сужение коркового и почти полное отсутствие паракортикальных слоев. Гематоксилин-эозин. г. Выраженная плазмноклеточная метаплазия в мякотных шнурах мозгового слоя. Пиронин по Браше, ув.  $10\times 10$ .

крыс большого количества тучных клеток в стадии дегрануляции. Однако дефицит паратгормона тормозит синтез ДНК [6], в результате чего антигенстимулированные клетки даже при выраженной ПЧЗТ слабо реагируют на специфический митоген в реакции бласттрансформации. РБТЛ ослаблена и в опытах *in vivo*. Подтверждением тому является отсутствие активации плазмноклеточной метаплазии в корковом и паракортикальном слоях дренирующих лимфоузлов паратиреопривных крыс в ответ на введение в подушечку задней лапки препарата PPD.

Эти данные согласуются с мнением Bloom et al., Bies D. et al. (по [4]) о том, что продукция ЛИФ (фактор, ингибирующий миграцию лейкоцитов) лимфоцитами, стимулированными антигеном, может осуществляться без пролиферации клеток и что их образование не связано с клетками, вовлекаемыми в бласттрансформацию.

Проведенные эксперименты диктуют необходимость изучения механизма разнопланового эффекта со стороны различных типов и пулов иммунокомпетентных клеток в условиях гипопаратиреоза. Одновременно они дают основание задуматься над необходимостью очень осторожного подхода к иммунизации BCG лиц с прямыми или косвенными признаками гипопаратиреоза.

Лаборатория иммунологии ЦНИЛ

Ермединститута

Поступила 20/IX 1981 г.

Ջ. Ա. ԱՀԱՐՈՆՈՎԱ, Մ. Բ. ԱՎԵՏԻԲՅԱՆ, Է. Ի. ԳԱՍՊԱՐՅԱՆ.

Ա. Ա. ԲԱՅԲՈՒՐԻԱՆ

ՀԱՐՎԱՀԱՆԱԶԵՎ ԳԵՂՁԻ ԴԵՐԸ ԴԱՆԴԱՂ ԸՆԹԱՑՈՂ

ԳԵՐՁԳԱՅՆՈՒԹՅԱՆ ՁԵՎԱՎՈՐՄԱՆ ՄԵՋ

Հստ իմուն-մորֆոլոգիական հետազոտությունների տվյալների Ֆրեյնդի լրիվ ադյուվանտով գերզգայնացված հարվահանազերծված առնետների մոտ տուբերկուլինի նկատմամբ դանդաղ ընթացող գերզգայնության ռեակցիան ավելի ցայտուն է արտահայտված, իսկ լիմֆոցիտների բլաստոտրանսֆորմացիայի ռեակցիան յուրահատուկ միտոզածնի հանդեպ զգալիորեն հետ է մնում ստուգիչ խմբի ցուցանիշներից:

I. A. AHARONOVA, M. B. AVETKIAN, E. I. GASPARIAN, S. A. BAYBOURTIAN

## THE ROLE OF PARATHYROID GLANDS IN FORMATION OF HYPERSENSIBILITY OF SLOW TYPE

By immunomorphologic investigations it has been revealed that hypersensibility of slow type to tuberculin in sensitized with complete Freund adjuvant parathyroidectomized rats is strongly expressed, while the reaction of blasttransformation specific to mitogen is considerably low.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Агааронова Д. А., Аветикян М. Б., Байбуртян С. А. Ж. экспер. и клин. мед. АН Арм. ССР, 1980, XX, 1, стр. 26.
2. Гюльсинг Э. В., Помыткина П. Р., Земляная И. А. Лаб. дело, 1977, 12, стр. 733.
3. Маркарян Л. Н. Лаб. дело, 1969, 3, стр. 177.
4. Медуняцын Н. В., Литвинов В. И., Мороз А. М. Медиаторы клеточного иммунитета и межклеточного взаимодействия. М., 1980.
5. Clausen J. E. Acta Allergol. (Kbh), 1971, 26, 1, 56.
6. Swirenga S. H. H., Mac-Manus J. P. et al. J. Immunol., 1976, 117, 5, 1608.

УДК 616.447:577.352.334:612.351

Д. Н. ХУДАВЕРДЯН, Л. М. МЕЖЛУМЯН, Р. А. СААКЯН

### ВЛИЯНИЕ $\alpha$ -ТОКОФЕРОЛА И ТИОСУЛЬФАТА НАТРИЯ НА АКТИВНОСТЬ ГИСТИДАЗЫ И УРОКАНИНАЗЫ В ПЕЧЕНИ И КРОВИ КРЫС ПРИ ГИПОФУНКЦИИ ОКОЛОЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ

Показано, что гипофункция околощитовидных желез приводит к понижению активности гистидазы и уроканиназы в печени и повышению ее в крови. Введение паратиреопривным крысам тиосульфата натрия и  $\alpha$ -токоферола нормализующе действует на активность вышеназванных ферментов, что дает основание рекомендовать их применение в системе комплексного лечения гипопаратиреоза.

Наблюдаемое при гипофункции околощитовидных желез нарушение обмена кальция, процессов липидной пероксидации [3, 5], системы гиалуроновая кислота—гиалуронидаза [10], транспортных систем клетки [6] свидетельствует о повышении при данной патологии проницаемости клеточных мембран. Это подтверждается также проведенными в нашей лаборатории экспериментами по выявлению в крови активности некоторых органоспецифических ферментов печени (триптофанпирролаза, гистидаза, уроканиназа), которые могут мигрировать в кровь только при нарушении проницаемости гепатоцитов [4, 9].

Учитывая сильное антиоксидантное действие  $\alpha$ -токоферола, ингибирование им процессов липидной пероксидации, а также противотоксические и противовоспалительные свойства тиосульфата натрия, мы использовали их как агенты, которые могут привести к нормализации структуры и функции мембран, а соответственно и активности органоспецифических ферментов печени при гипофункции околощитовидных желез.

#### Материал и методика

Опыты проведены на белых беспородных крысах-самцах массой 100—120 г. Гипофункция околощитовидных желез вызывалась путем электрокоагуляции околощитовидных желез. Доказательством паратиреоидной недостаточности служило понижение содержания кальция в сыворотке крови, определяемое по Де-Ваарду.