

УДК 616.056.3.001.6:616.24

Н. М. Бережная, В. Г. Бордонос,  
Л. А. Куюн, Л. В. Яхимович

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ

В последние годы наметилось оживление исследований в области экспериментального моделирования патологии аллергического генеза. Так, получены модели экспериментальной астмы [5], реактивной гиперчувствительности аллергического бронхоспазма у собак [7]. Разработана модель поллинозов у морских свинок путем аэрозольной сенсibilизации экстрактом пыльцы амброзии [1]. Параллельно идет активный поиск моделей, в основе которых лежит замедленная гиперчувствительность, развивающаяся в ответ на введение микробных антигенов и антигенов другой природы. В этом плане значительный интерес представляет модель аллергического пневмонита, полученного с помощью *M. faeni* [13, 14]. Однако, пока имеется ограниченное число работ, в которых оценка модели проводилась бы на основе комплексного иммунологического и морфологического исследований в динамике развития аллергии.

Нами представлены данные по моделированию аллергического поражения легких в экспериментах, которые по возможности, приближали бы эту модель к условиям развития аллергических заболеваний легких у человека. Для этого был избран принцип многократного воздействия на экспериментальных животных сравнительно небольшого количества аллергена. Характеристика иммунологических процессов отражала состояние клеточного и гуморального иммунитета, а также выраженность сенсibilизации определялась по замедленному и немедленному типу.

#### Методика исследований

Опыты проведены на 60 (40 опытных и 20 контрольных) беспородных морских свинок весом 350—450 г. Животным пятикратно подкожно вводили по 10 мкг овальбумина (ОА) с интервалом семь дней между инъекциями антигена. После четырехнедельного перерыва сенсibilизированным животным в специальной камере проводили многократные ингаляции овальбумина, растворенного в физиологическом растворе (всего проведено 18—20 ингаляций, доза ОА 2 мкг на животное, время ингаляции 20—30 мин).

Для иммунологических исследований определяли а) содержание *T*-[12] и *B*-розеткообразующих клеток [11] периферической крови (абсолютное число и %); б) титр антител к овальбумину; в) индекс торможения миграции бронхо-альвеолярных клеток в присутствии специфического антигена [8, 9]; г) проводили кожные пробы с овальбумином по немедленному и замедленному типу. Статистическая обработка данных осуществлялась по [4].

Для морфологических исследований препараты легких окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону. Исследования проводили в динамике (до начала опыта, после иммунизации, через 3, 6, 10 нед ингаляции, а также спустя три месяца после последней ингаляции — по 10—12 морских свинок на каждый срок). Полученные данные обрабатывались статистически по [2].



## Результаты исследований

Результаты исследований показывают, что в процессе моделирования происходят значительные изменения в морфологической картине легких и иммунологическом статусе подопытных животных.

Как видно из таблицы, иммунизация морских свинок столь малыми дозами антигена не приводит к существенному изменению количества *T*- и *B*-розеткообразующих клеток. В этот период в сыворотке определялись антитела к овальбумину в достаточно высоких титрах. Внутрикожное введение антигена сопровождалось интенсивной реакцией по немедленному типу при отсутствии реакции замедленного типа. Исследование сенсибилизации методом *in vitro* торможение миграции бронхо-альвеолярных клеток подопытных животных показало недостаточную степень сенсибилизации после иммунизации (индекс миграции — 0,89). После ингаляции в течение трех недель достоверно увеличивается число *B*- и *T*-розеткообразующих клеток; титры антител к овальбумину несколько снижаются (см. таблицу). Выраженность кожной реакции немедленного типа снижается. Параллельно с этим отмечается развитие кожной реакции по замедленному типу. Реакцией торможения миграции отмечается возрастание степени сенсибилизации (индекс миграции уменьшается). После шести недель ингаляции число *B*- и *T*-розеток остается повышенным. Титры антител против овальбумина в этот период все еще достаточно высоки (см. таблицу). Кожные пробы показали усиление выраженности реакций замедленного типа, в то время как реакции немедленного типа продолжают уменьшаться. В реакции торможения миграции изменений не наблюдалось. После десяти недель ингаляции число *T*- и *B*-розеткообразующих клеток остается высоким по сравнению с исходными цифрами. При этом титры антител против овальбумина значительно снижаются. Специфическая сенсибилизация по клеточному типу уве-

Динамика иммунологических показателей у морских свинок при моделировании экспериментального поражения легких

| Сроки обследования                     | <i>B</i> -РОК |                   | <i>T</i> -РОК |                   | Титры АТ против овальбумина | Сенсибилизация                                        |                                |                                |
|----------------------------------------|---------------|-------------------|---------------|-------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                                        | %             | абсолютное число  | %             | абсолютное число  |                             | Индекс торможения миграции бронхо-альвеолярных клеток | кожные пробы немедленного типа | кожные пробы замедленного типа |
| До начала опыта                        | 32            | 1885              | 42            | 2563              | не обнаружены               | 1,003                                                 | отрицательная реакция          | отрицательная реакция          |
| После иммунизации                      | 30            | 1922              | 43,5          | 2605              | 1,2                         | 0,89                                                  | 2,6                            | отрицательная реакция          |
| Через 3 нед ингаляции                  | 38            | 2510<br>$p=0,01$  | 49            | 3657<br>$p=0,005$ | 0,98                        | 0,82                                                  | 1,5                            | 1,1                            |
| Через 6 нед ингаляции                  | 33            | 2812<br>$p=0,005$ | 45,2          | 3664<br>$p=0,001$ | 0,93                        | 0,815<br>$p=0,001$                                    | 1,2                            | 3,0                            |
| Через 10 нед ингаляции                 | 34,3          | 2580<br>$p=0,05$  | 49            | 3754<br>$p=0,001$ | 0,73                        | 0,78<br>$p=0,001$                                     | 1,75                           | 3,2                            |
| Спустя 3 мес после последней ингаляции | 43            | 2770<br>$p=0,001$ | 68,6          | 4220<br>$p=0,001$ | не обнаружены               | 0,48<br>$p=0,001$                                     | отрицательная реакция          | 2,7                            |



личивается, что подтверждается результатами реакции торможения миграции. Через три месяца после окончания ингаляции число розеток, образованных *B*-лимфоцитами, оставалось по-прежнему высоким, в то время как (с высокой достоверностью) увеличилось число розеток, образованных *T*-лимфоцитами как в процентном выражении, так и по абсолютному количеству клеток. Титры антител в овалбумину не

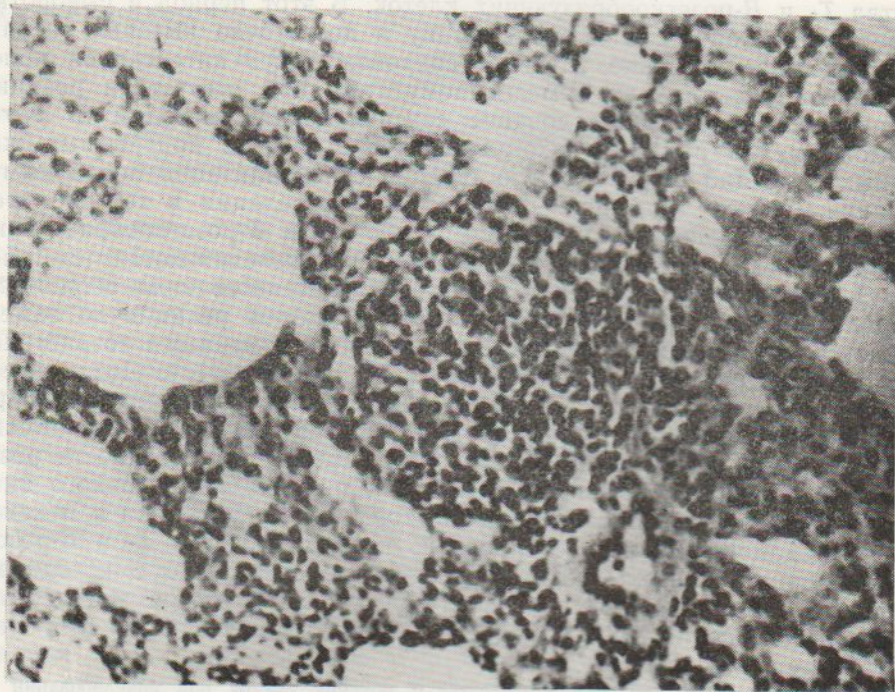


Рис. 1. Легкое морской свинки (3 нед ингаляции).

Слушивание эпителия в просвет бронхов. Гипертрофия мышечного слоя артериол. Окраска гематоксилин-эозином. 10×10.

выявлены. В ответ на внутрикожные пробы отмечалось отсутствие реакции немедленного типа при достаточно высокой реакции замедленного типа. Результаты реакции торможения миграции свидетельствуют о нарастании сенсibilизации клеточного типа — определен очень малый индекс миграции.

При морфологическом изучении препаратов легких учитывали изменения межальвеолярных перегородок, стенок бронхов мелкого и крупного калибров и состояние сосудов. Данные морфологических исследований могут быть суммированы следующим образом. При иммунизации в ткани легкого наблюдалась гиперплазия перибронхиальных лимфоидных фолликулов, некоторое накопление иммунокомпетентных клеток в стенках альвеол, появление периваскулярных инфильтратов, состоящих из плазмочитарно-лимфоцитарных элементов. Через 3—4 нед ингаляции стенки альвеол утолщены вследствие инфильтрации клетками, в которой преобладают гистио-лимфоцитарные элементы, плазматические клетки, а также клетки моноцитарно-макрофагального порядка. В просветах альвеол накопление экссудата. В отдельных участках эмфизематозные поражения. Для изменений бронхов на этом этапе процесса характерно обширное слушивание эпителия (местами с обрывом пластов в просвет). В других бронхиолах виден регенери-



рующий сочный эпителий. Стенки бронхов инфильтрированы моноцитами, лимфоидными и плазматическими клетками; в стенках бронхиол часто видны гипертрофии мышечного слоя, гиперплазия перибронхиальных лимфоидных фолликулов. В сосудах легких обнаружены застойные явления, в артериолах — гипертрофия мышечных элементов. Отмечаются небольшие периваскулярные инфильтраты, периваскуляр-



Рис. 2. Легкое морской свинки (6 нед ингаляции).  
Инфильтрация межальвеолярных перегородок моноцитами и гиперплазия перибронхиального лимфоидного фолликула. Окраска гематоксилин-эозином.  $10\times 10$ .

ная соединительная ткань разрыхлена и отечна. Перечисленные изменения дают основание говорить о развитии острого аллергического бронхопневмонита (рис. 1).

Через шесть недель ингаляции в легких интенсивно нарастает продуктивный компонент, отмечаются более обширные эмфизематозно измененные участки; встречаются отдельные очаги некроза. По периферии его много эпителиоидных и гигантских клеток, инфильтрация межальвеолярных перегородок с преобладанием мононуклеаров. В бронхах крупного калибра слущивание эпителия, в бронхиолах регенераторные процессы. Мышечные элементы бронхиол иногда гипертрофированы, в других участках, наоборот, тонус их потерян и формируются небольшие бронхоэктазы. Сосуды полнокровны, стенки сосудов инфильтрированы лимфоцитами, наблюдается гипертрофия мышечного слоя мелких артерий. Вокруг сосудов везде отмечается периваскулярная реакция (преимущественно из лимфоцитов, гистиоцитов и плазматических клеток). Морфологические изменения на этом этапе дают основание говорить о дальнейшем прогрессировании интерстициальной пневмонии с васкулитом в системе легочной артерии (рис. 2).

Продолжение ингаляции (8 нед) приводит к дальнейшему прогрессированию интерстициальной пневмонии. Инфильтрация становится



ся настолько выраженной, что во многих местах исчезает просвет альвеол. В отдельных участках в просветах скопление макрофагов, а также эпителиоидных клеток. В эпителии крупных бронхов преобладают регенераторные процессы, стенки их инфильтрированы плазматическими клетками; многочисленные бронхоэктазы, в которых мышечный слой вытесняется разрастающимся фиброзным каркасом. Сосуды застойны с явлениями васкулита и периваскулита; в артериях различных калибров гипертрофия мышечного слоя. В стенках альвеол увеличение количества коллагеновых волокон.

На 9—10 нед ингаляции в морфологической картине легких к явлениям интерстициальной пневмонии присоединяются острые нарушения кровообращения и нарастание прогрессирующего острого фиброза легких.

### Обсуждение результатов исследований

Параллельное изучение иммунологических механизмов и морфологической картины патологического процесса в легких дает возможность сопоставить полученные результаты на различных этапах аллергического поражения легких. Иммунизация малыми дозами антигена сама по себе не приводит к выраженным изменениям морфологических структур и иммунологического статуса подопытных животных. Однако, через 3—4 нед последующей ингаляции можно отметить развитие патологического процесса, обусловленного реакциями немедленного и замедленного типа (наличие антител в сыворотке, клеточная инфильтрация гистиоцитами, лимфоцитами, макрофагами и плазматическими клетками). По мере развития процесса выраженность реакций немедленного типа ослабевает при усилении замедленных реакций, что дает основание говорить о ведущем значении клеточных механизмов на этапах наиболее выраженных изменений в легких. Последнее подтверждается типичной морфологической картиной, в которой на данном этапе преобладает продуктивная реакция с инфильтрацией клетками лимфоидного ряда, что, согласно [3], является основным признаком аллергической реакции замедленного типа. Вызывает особый интерес то, что даже через 3 мес после окончания ингаляции иммунологические процессы, отражающие сенсibilизацию по клеточному типу, не только не ослабевают, но и усиливаются. В связи с этим можно предположить, что за клеточными механизмами в течение длительного времени сохраняется способность к реакции при возможной повторной ингаляции аллергена. При этом следует подчеркнуть, что поскольку состояние сенсibilизации оценивалось на основании торможения миграции бронхо-альвеолярных клеток, а не клеток периферической крови, есть основание говорить о том, что нарастание сенсibilизации обусловлено способностями иммунокомпетентной системы легкого, лимфоидная ткань которого, как стало известно в последнее время, обладает определенной автономностью [6, 10].

Таким образом, разработанная схема введения антигена позволила получить модель аллергического поражения легких у морских свинок. Полученная модель аллергического бронхопневмонита продуктивного типа с преобладанием замедленных реакций может быть использована для дальнейшего изучения механизмов развития патологии легких аллергического генеза.



## Выводы

1. Разработана экспериментальная модель аллергического поражения легких в результате многократных ингаляций раствора овальбумина на предварительно сенсибилизированных морских свинок.
2. Проведенные иммунологические и морфологические исследования показали, что наблюдаемые изменения в легких обусловлены аллергическими реакциями немедленного и замедленного типа, с преобладанием последнего.

## Литература

1. Адо А. Д., Лукманова Ф. Ф., Алексеева Т. А., Авдеева Т. А. Моделирование экспериментального поллиноза. БЭБМ, 1977, № 11, с. 590—593.
2. Гублер Е. В., Генин А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Ленинград: Медицина, 1973.—140 с.
3. Есипова И. К. Патологическая анатомия легких. М.: Медицина, 1976.—183 с.
4. Aastaldi D., Varga T. Ricerno cito chemical sul conteni in glicogeno dei lymphociti della leucemia limfatica in rapporto allora graolo di naturazi one.—Bull. Soo. Ital. Biol. sperum. 1957, 333, p. 244—248.
5. Ciesa A., Dain D., Gold W. Histamine release during antigen inhalation in experimental astma in dogs.—Amer. Rev. Resp. Dis., 1975, 111, N 2, p. 148—156.
6. Dannenberg A. Influence of environmental factors on respiratory tract.—J. Reticuloend. Soc., 1977, 22, N 3, p. 213—220.
7. Kepron W., James J., Kirk B., Schon A., Kan Tse. A canine model for reaginic hypersensitivity as a allergic bronchoconstriction.—J. Allergy and Clin. Immunol., 1977, N 1, p. 64—69.
8. Mirvik Q. N., Leake E. S., Farris B. Studies on pulmonary alveolar macrophages from the normal rabbit: a technique to procure them in high state of purity.—J. Immunol., 1961, 86, N 2, p. 128—132.
9. Peterson L. B., Thrall R. S., Moor V. L., Stevens J. O., Abramov P. An animal model of hypersensitivity pneumonitis in the rabbit. Induction of cellular hypersensitivity to inhaled antigens using carrageenan and BCG.—Amer. Rev. Resp. Dis., 1977, 116, N 6, p. 1007—1012.
10. Roberts I. A., Moor V. L. Immunogenesis of hypersensitivity pneumonitis.—Amer. Rev. Resp. Dis., 1977, 116, N 6, p. 1075—1086.
11. Robinson I. A., Letratanakul Y. Simultaneous method for detection and quantitation of T- and V-lymphocytes.—J. Immunol. Meth., 1975, 8, N 1/2, p. 53—60.
12. Stadercker M. J., Bishop G., Mortis H. H. Rosette formation by guinea pig thymocytes and thymus derived lymphocytes with rabbit red blood cells.—J. Immunol., 1973, 111, N 6, p. 1834—1837.
13. Wilkie B. N. Experimental hypersensitivity pneumonitis.—Int. Archs. Allergy app. Immunol., 1976, 50, p. 559—573.
14. Wilkie B. N. Experimental hypersensitivity pneumonitis: Reduced severity clinical response following repeated injection of Micropolyspora faeni antigen.—Int. Archs. Allergy appb. Immunol., 1977, 53, N 5, p. 589—594.

Отдел аллергологии  
Института проблем онкологии АН УССР;  
Центральная научно-исследовательская лаборатория  
Киевского медицинского института

Поступила в редакцию  
15.1 1979 г.

N. M. Berezhnaya, V. G. Bordonos, L. A. Kuyun, L. V. Yakhimovich  
EXPERIMENTAL MODELLING OF LUNGS ALLERGIC DAMAGE

## Summary

An experimental model of allergic damage of the lungs is elaborated as a result of the multiple inhalation effect of the ovalbumin solution on the presensitized guinea pigs. The immunological and morphological studies carried out showed that the observed changes in the lungs are due to allergic reactions of immediate and delayed types with predomination of the latter.

Institute for Oncology Problems,  
Academy of Sciences, Ukrainian SSR;  
Central Research Laboratory,  
Medical Institute, Kiev