

по сравнению с числом общих Е-розеткообразующих клеток (см. таблицу).

Полученные данные выявили некоторые изменения в количестве и активности тимусзависимых лимфоцитов у практически здоровых детей и взрослых лиц.

Результаты наших исследований в известной мере сопрягаются с литературными данными [1—6] о том, что весной снижается количество В-лимфоцитов, показатели деятельности ретикуло-эндотелиальной системы (уровень пропердина, фагоцитарная активность нейтрофилов, число моноцитов крови, бактериолитическая активность слюны), а также способность лимфоцитов к формированию бластов, в то время как летом происходит повышение этих показателей выше среднегодового уровня.

Исследование количества и активности тимусзависимых лимфоцитов более непосредственно отражает состояние центрального звена иммунной системы. С нашей точки зрения, полученные нами данные, особенно касающиеся практически здоровых детей, представляют интерес и в эпидемиологическом отношении, так как коррелируют с сезонными вариациями частоты острых респираторных заболеваний и обострениями хронических инфекционно-аллергических заболеваний [4], в связи с чем можно заключить, что при проведении специфических и неспецифических лечебных и лечебно-профилактических мероприятий необходимо учитывать сезонные изменения основных показателей состояния иммунной системы.

Сезонные изменения количества и активности тимусзависимых лимфоцитов необходимо учитывать и при решении вопросов о способах и методах иммунокорригирующей терапии.

Список литературы

1. Андрущук А. А., Делецкая Л. П., Тяжкая А. В. и др. Показатели иммунологической реактивности у детей раннего возраста в различные сезоны года и в связи с некоторыми фоновыми состояниями.— В кн.: Иммунология и иммунопатологические состояния у детей. Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. М., 1983, с. 75—76.
2. Голиков А. П., Голиков П. П. Сезонные биоритмы в физиологии и патологии.— Медицина, 1973.—167 с.
3. Козарь М. И., Значко В. А., Реутова М. Б., Цыганова Н. И. О сезонном ритме неспецифической иммунологической реактивности организма человека.— Лаб. дело, 1975, № 2, с. 103—105.
4. Максимов А. Б., Николаевский В. В., Соломатин А. П., Иванов С. А. Иммунологическая реактивность организма и заболеваемость лор-органов на Крайнем Севере.— В кн.: Некоторые вопросы медицинской географии Сибири. Новосибирск: Наука, 1975, с. 66—67.
5. Пономаренко Л. С. Изменение иммунореактивности у лиц молодого возраста в течение года.— Иммунология и аллергия, 1981, вып. 15, с. 79—82.
6. Пуринь В. И., Назаров П. Г., Воронцов И. М., Софронов Б. Н. О сезонных изменениях функциональной активности лимфоцитов периферической крови человека.— Физиология человека, 1976, 2, № 3, с. 464—468.

Киев. ин-т отоларингологии МЗ УССР

Поступила 04.01.84

УДК 616—003.826—092.3:612.419—089.843

И. М. Ганджа, Г. И. Когут, А. Ф. Федотов, Л. Л. Карабанова

ВЛИЯНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ПЕРЕСАДКИ АУТОЛОГИЧНОГО КОСТНОГО МОЗГА НА РАЗВИТИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЛИПИДОЗА АОРТЫ У КРОЛИКОВ

Много невыясненных вопросов остается в механизмах развития атеросклероза. Не совсем ясна также роль иммунологических механизмов в развитии таких факторов атерогенеза, как инфильтрация

интимы сосудистой стенки липидами, пролиферация гладкомышечных клеток, внеклеточное накопление коллагена, эластина и протеогликанов. Высказывается мнение [3], что холестерин проникает в сосудистую стенку в виде иммунных комплексов, состоящих из бета-липопротеидов — антигенов и иммуноглобулина G — антитела. При введении новорожденным кроликам фракции бета- и пребета-липопротеидов, выделенных из крови животных с экспериментальным атеросклерозом у новорожденных развивалась иммунологическая толерантность к атеросклерозу. Еще ранее были проведены экспериментальные исследования по предотвращению экспериментального атеросклероза иммунизацией животных бета-липопротеидами [6, 7].

Изучение иммунологического статуса у больных атеросклерозом показало [2] наличие признаков недостаточности T-зависимой системы иммунитета, проявляющееся уменьшением относительного и абсолютного числа в периферической крови T-лимфоцитов, снижением реакции бластной трансформации лимфоцитов при стимулировании ФГА. Количество B-клеток при этом существенно не изменялось. Вместе с тем отмечено некоторое нарастание иммуноглобулинов G, M и A в крови больных, причем наиболее отчетливо эти изменения наблюдались при IV типе гиперлипидемии. В наших исследованиях [1] было также отмечено значительное снижение супрессорной активности T-лимфоцитов у больных атеросклерозом.

Исходя из положения о значительном снижении функции T-лимфоцитов супрессоров при атеросклерозе и возможном патогенетическом значении этого фактора, мы решили изучить предварительное влияние на развитие экспериментального липидоза у кроликов введения молодых стволовых гемопоэтических клеток — предшественников иммунологически активных клеток. Мы предполагали, что таким образом удастся повысить супрессорную активность T-лимфоцитов, что должно положительно сказаться на торможении образования антител против бета-липопротеидов, уменьшить образование иммунных комплексов в виде которых, по предположению [3], липопротеиды инфильтрируют сосудистую стенку.

Методика

Исследования проводились на кроликах породы шиншилла, которые были распределены на опытную и контрольную группы. В начале исследования у кроликов был взят костный мозг и подвергнут консервированию с целью его трансплантации тем же кроликам в более старшем возрасте. Эксфузию костного мозга производили методом аспирации из бедренных костей иглой Кассирского. В среднем от одного кролика получали $2,7 \cdot 10^8$ ядерных клеток. Очистку миелокариоцитов от примеси эритроцитов и жира проводили с помощью осаждающего раствора, содержащего полиглиокин, после чего взвесь миелокариоцитов смешивали с криопротекторным раствором 9% поливинилпирролидона в соотношении 1:1 и разливали в алюминиевые контейнеры емкостью по 50 мл. Затем контейнеры с костным мозгом подвергали замораживанию по специальной программе и длительному хранению при температуре жидкого азота (-196°C). После двух лет хранения костный мозг был разморожен при температуре 40°C . Оценку морфо-функциональных свойств миелокариоцитов после размораживания производили по методу Шрека и люминесцентной микроскопии. В образцах размороженного костного мозга сохранность клеток составляла 89%. Затем 10 кроликам опытной группы была осуществлена трансплантация криоконсервированного аутологичного костного мозга в дозе $2,6 \cdot 10^8$ ядерных клеток. В процессе миелотрансплантации и после нее у кроликов осложнений не было отмечено. Контрольной группе (5 кроликов) ретрансплантации мозга не было произведено. В дальнейшем, через 2 нед, кроликам обеих групп был проведен восьминедельный курс холестеринного кормления. Холестерин в растворе подсолнечного масла вводили через желудочный зонд ежедневно из расчета 0,1 г холестерина на 1 кг массы кролика. Как до начала опыта, спустя 2 года после взятия костного мозга, так и после миелотрансплантации у кроликов обеих групп через 4 и 8 нед холестеринного кормления определяли холестерин крови по Илку, бета-липопротеиды по методу Бурштейн—Са-

май в модификации Ле-Зильверсмита.

После 8 нед холестеринной. Для гистологических брали кусочки с последующим окрашиванием гематоксилином и эозином на липопротеиды. Дриды после микротомического среза (матоксилином).

При первых трех (до начала опыта, ч опытной группы после контрольной разницы в триглицеридах между чено не было, но через некоторое снижение с триглицеридах, одна верны ($p > 0,05$). Черления холестеринном бета-липопротеидов $\pm 1,72$ г/л в контрольных (1,17 $\pm 0,14$) мм



Рис. 1. Контроль. Незн бо

в контрольной при $p < 0,05$ жании холестерина между группами ($8,92 \pm 1,1$), стверно ($p < 0,2$).

Через 8 нед кормл нарушения содержания ной группе (холестерин трольной $9,39 \pm 0,32$ при $\pm 3,31$ г/л, в контрольной опытной — $(1,93 \pm 0,28) < 0,05$).

маи в модификации Ледвина (1958) и триглицериды по методу Ван-Ганделя—Зильверсмита.

После 8 нед холестеринавого кормления кроликов умертвляли воздушной эмболией. Для гистологического исследования из различных отделов аорты у кроликов брали кусочки с последующей фиксацией в формалине. Часть из них заливали в парафин и окрашивали гематоксилин-эозином, а также суданом черным-В по Беренбауму на липопроотеиды. Другую часть препаратов окрашивали суданом III на общие липиды после микротомирования на замораживающем микротоме (с докраской гематоксилином).

Результаты и их обсуждение.

При первых трех исследованиях липидного состава крови кроликов (до начала опыта, через 2 года после эксфузии костного мозга и у опытной группы после трансфузии костного мозга) статистически достоверной разницы в показателях холестерина, бета-липопротеидов и триглицеридов между опытной и контрольной группой кроликов получено не было, но через 2 года в опытной группе можно было отметить некоторое снижение содержания холестерина и повышение содержания триглицеридов, однако эти изменения не были статистически достоверны ($p > 0,05$). Через 4 нед после пересадки костного мозга и кормления холестерином была обнаружена явная разница в содержании бета-липопротеидов ($7,73 \pm 1,15$ г/л в опытной группе и $15,66 \pm 1,72$ г/л в контрольной группе при $p < 0,02$ и особенно триглицеридов ($1,17 \pm 0,14$ ммоль/л в опытной группе и $2,79 \pm 0,17$ ммоль/л

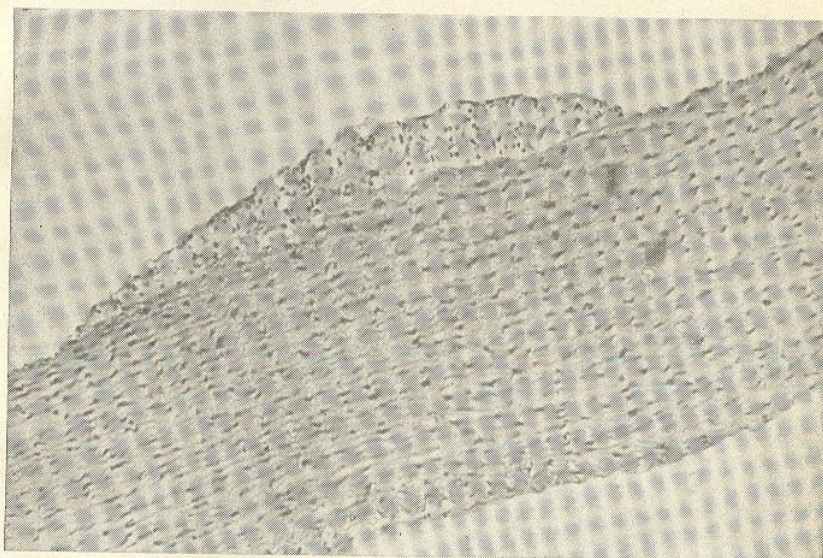


Рис. 1. Контроль. Незначительное сегментарное утолщение интимы аорты с большим содержанием липофагов.
Гематоксилин-эозин. Ув. $\times 63$.

в контрольной при $p < 0,001$. Наблюдались также различия в содержании холестерина между опытной, ($7,56 \pm 1,17$) ммоль/л и контрольной группами ($8,92 \pm 1,04$) ммоль/л, но оно было статистически недостоверно ($p < 0,2$).

Через 8 нед кормления наблюдались противоположные данные — нарушения содержания липидов крови были больше выражены в опытной группе (холестерин в опытной группе $13,3 \pm 1,35$ ммоль/л, в контрольной $9,39 \pm 0,32$ при $p < 0,02$; бета-липопротеиды в опытной $36,12 \pm 3,31$ г/л, в контрольной — $15,55 \pm 0,89$ при $p < 0,02$ и триглицериды в опытной — $1,93 \pm 0,28$ ммоль/л, в контрольной — $0,89 \pm 0,07$ при $p < 0,05$).

При гистологическом исследовании препаратов аорты, окрашенных гематоксилин-эозином, в интима аорты 5 кроликов контрольной группы были обнаружены сегментарные утолщения различной степени выраженности: от незначительных по длине и толщине (рис. 1) до распространенности на $2/3$ окружности просвета с максимальной толщиной, достигающей $1/2$ толщи средней оболочки (рис. 2). Особенно четко эти утолщения были выражены в местах отхождения от аорты ветвей. Описанные интимальные утолщения были представлены «пенистыми» макрофагами (липофагами) с незначительной примесью клеток типа гистиоцитов, а, судя по форме ядер — и гладкомышечных

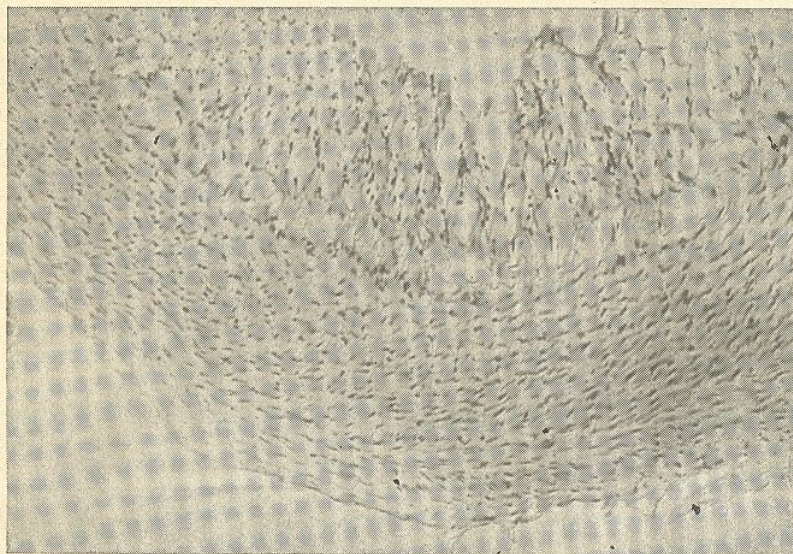


Рис. 2. Контроль. Массивные утолщения интимы аорты с большим содержанием липофагов.
Гематоксилин-эозин. Ув. $\times 63$.

клеток, дифференцировка которых от фибробластов в светооптическом микроскопе затруднена. У контрольных животных в зоне описанных изменений интимы во внутренних слоях медики наблюдался своеобразный эозинофильный отек, выражавшийся в отсутствии клеток и наличии гомогенной с участками вакуолизации оксифильной субстанции. Здесь же можно было отметить разволокнение внутренней эластической мембраны. При этом обнаруживались морфологические эквиваленты миграции миоцитов из средней оболочки во внутреннюю, что выражалось вертикальной ориентацией ядер мышечных клеток медики, прилегающей к зонам разрыхления внутренней эластической мембраны в участках утолщения интимы.

Липопротеиды по Беренбауму выявлялись в оболочках «пенистых» клеток, а также в виде слабо суданофильных мелкозернистых включений в их цитоплазме. Зоны оксифильного отека медики выглядели четко суданофильными. При окраске суданом III на общие липиды все зоны утолщения интимы проявляли яркую суданофилию (рис. 3).

В подопытной группе у четырех кроликов утолщения и липидоза интимы не обнаружено (рис. 4). У четырех животных выявлены следы общих липидов в незначительных по величине сегментах интимы без ее утолщения. Они находились в цитоплазме единичных липофагов и в виде узкой полоски в основном веществе по ходу внутренней эластической мембраны (рис. 5). У двух животных обнаруживались единичные незначительные сегментарные утолщения интимы за счет скопления «пенистых» клеток с общими липидами в цитоплазме (рис. 6).

Вне зон утолщения тончайшей полоски раренней эластической утолщений интимы на



Рис. 3. Контроль. С



Рис. 4. Подопытная групп

ренних слоев медики. Р подопытных животных ос
Таким образом, при групп экспериментальны му кормлению для восп ной из которых (опытн них же в молодом возр ные различия, возникав

Вне зон утолщения мельчайшие суданофильные включения в виде тончайшей полоски располагались в основном веществе по ходу внутренней эластической мембраны. В зонах отдельных сегментарных утолщений интимы наблюдались признаки оксифильного отека внут-

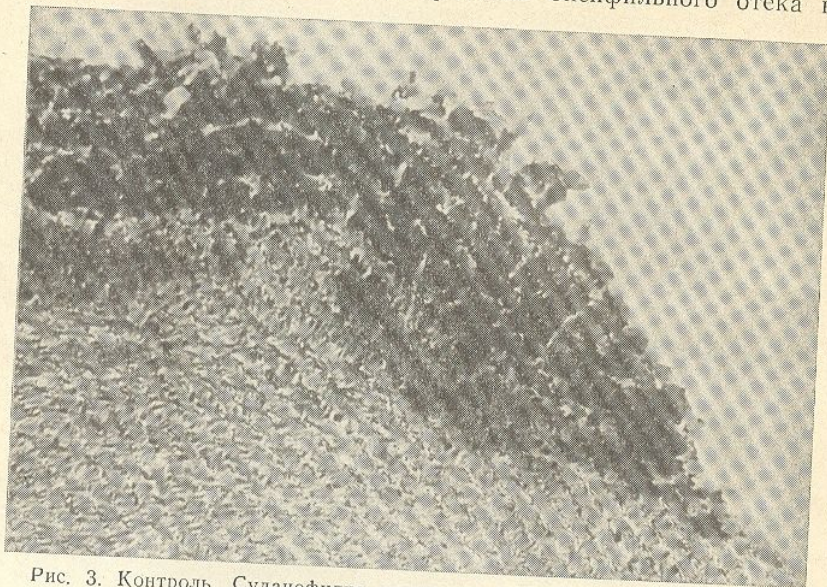


Рис. 3. Контроль. Суданофилия утолщенного участка интимы аорты. Судан III. Ув. $\times 250$.

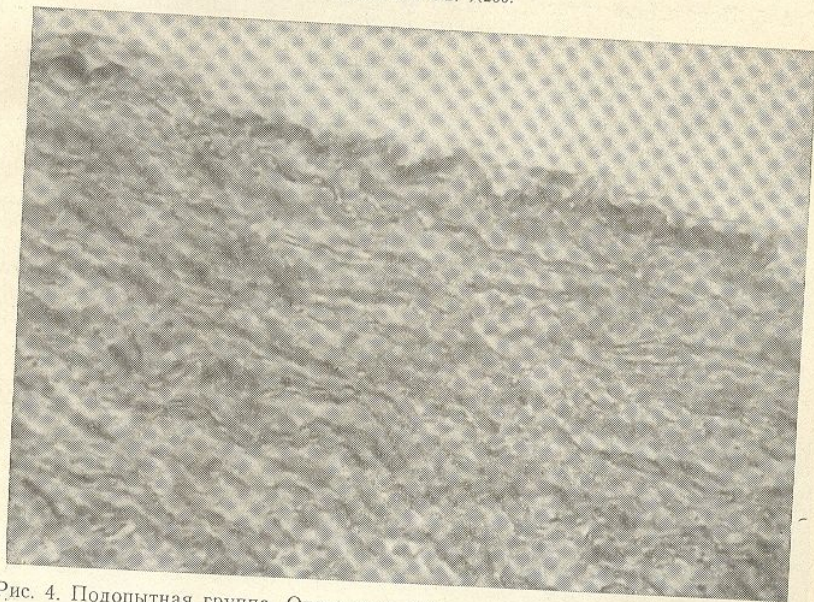


Рис. 4. Подопытная группа. Отсутствие утолщения и липидоза интимы аорты. Судан III. Ув. $\times 250$.

ренних слоев меди. Распределение и содержание липопротеидов у подопытных животных особенностей не имело.

Таким образом, при сопоставлении результатов исследования двух групп экспериментальных животных, подвергавшихся холестериновому кормлению для воспроизведения экспериментального липидоза, одной из которых (опытной) был пересажен костный мозг, взятый у них же в молодом возрасте, можно было отметить весьма существенные различия, возникавшие при кормлении. После месячного кормле-

ния холестерином у кроликов, подвергшихся аутоотрансплантации молодого костного мозга, отмечались менее значительные изменения в показателях липидного обмена, состоящие в более низком содержании в крови бета-липопротеидов и триглицеридов. Через 8 нед кормления отмечались противоположные изменения: у опытных кроликов более

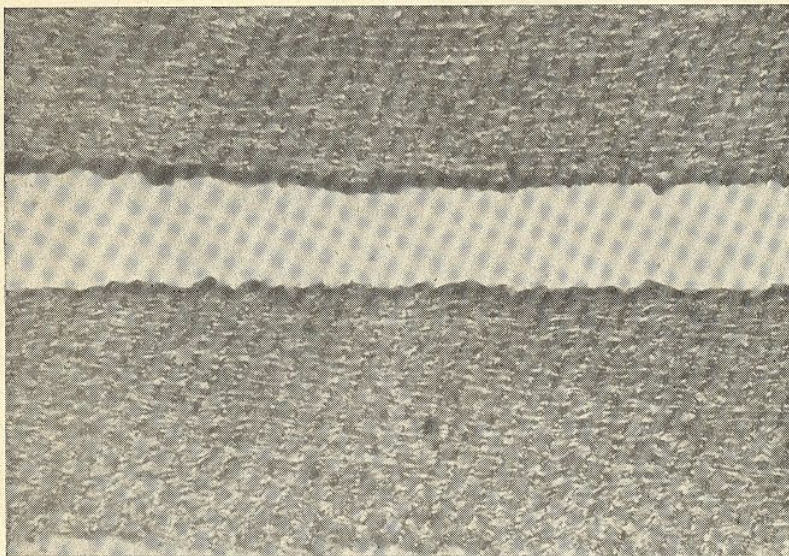


Рис. 5. Подопытная группа. Липидоз небольшого сегмента интимы аорты. Судан III. Ув. $\times 63$.

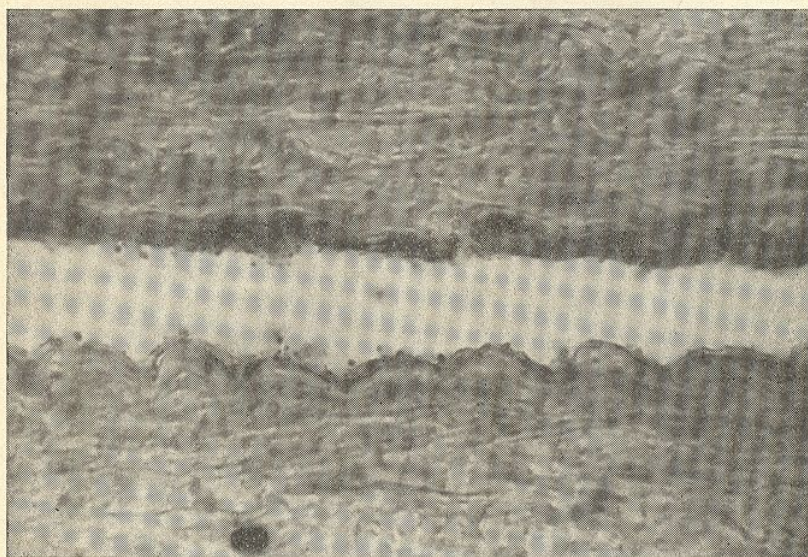


Рис. 6. Подопытная группа. Незначительное сегментарное утолщение и липидоз интимы аорты. Судан III. Ув. $\times 63$.

значительно повышалось содержание холестерина, бета-липопротеидов и триглицеридов. Повышение показателей липидного обмена в крови после различных методов сенсibilизации было отмечено многими авторами, даже без дополнительного введения холестерина — при неспецифической сенсibilизации, изоиммунизации [4, 5]. В условиях гетеросенсibilизации крыс наблюдали [9] повышение уровня тригли-

церидов и бета-липопротеидов и бета-липопротеидов, вызывало значительное введение холестерина [8], что было связано с возрастными изменениями антителообразования, липопротеидов, которые в виде иммунных комплексов препятствуют супрессии и особенно при атеросклерозе у молодых животных иммунокомпетентную функцию лимфатическую сосудистую стенку.

1. Пересадка аутоиммунитета вызывает экспериментальные нарушения содержания липидов в крови (4 нед) и к более поздним срокам в более отдаленные сроки.

2. Пересадка аутоиммунитета вызывает развитие экспериментального атеросклероза.

1. Ганджа И. М. Об иммунотоксическом действии аутоиммунитета при атеросклерозе. — *Вопросы иммунологии*, 1976, № 2, с. 12—17.
2. Ганджа И. М., Мякая Л. В. Типы гиперлипидемии при атеросклерозе. — *Вопросы иммунологии*, 1976, № 2, с. 12—17.
3. Климов А. Н. Некоторые данные о механизме развития атеросклероза. — *Вопросы иммунологии*, 1976, № 2, с. 12—17.
4. Beaumont J. L., Jacotot J. Cause d'atherosclerose. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1976, vol. 1, p. 734.
5. Beaumont J. L., Jacotot J. Atherosclerosis. — In: 7th Ciba Foundation Symposium, 1976, vol. 1, p. 734.
6. Gero S. The mechanism of atherosclerosis. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1976, vol. 1, p. 734.
7. Gero S., Gergely J., DeGroot L. J. (MPS) on the lipolytic activity of macrophages in atherosclerosis. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1976, vol. 1, p. 734.
8. Robert B., Robert A. M. Hygiene, 1969, 27, N 8, p. 388—395.
9. Sabat L., Renais J., Gros J. Injections d'un immuniserant. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1966, 11, N 4, p. 388—395.

Киев. ин-т усовершенствования врачей
Киев ин-т гематологии и переливания крови

церилов и бета-липопротеидов, при изоиммунизации через 6 нед — позднюю стойкую гиперлипидемию, сопровождающуюся поражением сосудов [4]. В наших исследованиях вводили аутологичную ткань, но содержащую большое количество стволовых клеток предшественников иммунокомпетентных клеток. Введение холестерина в этих условиях вызывало значительно меньшее развитие липидоза, чем изолированное введение холестерина. При объяснении этих изменений было отмечено [8], что большое значение в развитии атеросклероза имеют возрастные изменения иммунитета, способствующие повышению аутоантителообразования, в том числе образования антител против бета-липопротеидов, которые, согласно [3], отлагаются в сосудистой стенке в виде иммунных комплексов. Образованию аутоантител может препятствовать супрессорная активность лимфоцитов, которая с возрастом и особенно при атеросклерозе резко снижается. Пересадка же старым животным молодых гемопоэтических стволовых элементов, предшественников иммунокомпетентных клеток, возможно, стимулирует супрессорную функцию лимфоцитов и этим тормозит отложение липидов в сосудистую стенку.

Выводы

1. Пересадка аутологичного костного мозга кроликам, у которых вызывается экспериментальный липидоз, приводит к торможению нарушений содержания липидов в крови в ранние сроки после кормления (4 нед) и к более значительным нарушениям содержания липидов в крови в более отдаленные сроки холестеринового кормления (8 нед).
2. Пересадка аутологичного костного мозга значительно тормозит развитие экспериментального липидоза интимы аорты.

Список литературы

1. Ганджа И. М. Об иммунологии атеросклероза (функциональное состояние Т-клеток-супрессоров при атеросклерозе). — Врач. дело, 1980, № 4, с. 61—64.
2. Ганджа И. М., Мякая И. П., Бобрик М. В. Показатели иммунитета при различных типах гиперлипидемии. — Физиол. журн., 1982, 28, № 4, с. 410—416.
3. Климов А. Н. Некоторые вопросы патогенеза атеросклероза. — Кардиология, 1976, № 2, с. 12—17.
4. Beaumont J. L., Jacotot B., Beaumont V. L'hyperlipidemie par autoanticorps une cause d'atherosclerose. — Presse med. 1967, 75, N 5, p. 2315—2320.
5. Beaumont J. L., Jacotot B., Beaumont V., Buxtorf J. Immunological factors of atherosclerosis. — In: 7th Congr. of Cardiol. Amsterdam 20—25.VI.1976. Amsterdam, 1976, vol. 1, p. 734.
6. Gero S. The mechanism of inhibition of cholesterol atherosclerosis by immunization with B-lipoprotein. — In: Acta III Europ. de cordis scientes convents, Roma 18—24.IX.1960. Roma, 1960, p. 7—9.
7. Gero S., Gergely J., Devenyi T. et al. The influence of some mucopolysachrides (MPS) on the lipolytic activity of the aorta of animals. — In: Metabolismus Parietis Vasorum. Praha, 1961, p. 34—37.
8. Robert B., Robert A. Mechanismes immunologiques dans l'atherosclerose. — Med. et Hygiene, 1969, 27, N 8, p. 822—824.
9. Sabat L., Renais J., Groult W. et al. Sesiions artérielles produites chez le rat par de injections d'un immunserum de lapin antiaorte de rat. — Rev. Franc. études clin. biol., 1966, 11, N 4, p. 388—395.

Киев. ин-т усоверш. врачей;

Киев ин-т гематологии и переливания крови

Поступила 10.11.83