УДК 615.365

КОМБІНАТОРНА ДІЯ АЛС, АЛГ І ЕЛЕКТРОМАГНІТНИХ РАДІОХВИЛЬ НА АБСОЛЮТНУ І ВІДНОСНУ КІЛЬКІСТЬ ЛІМФОЦИТІВ У ПЕРИФЕРИЧНІЙ КРОВІ ПРИ ПЕРЕСАДКАХ ШКІРНИХ ТРАНСПЛАНТАТІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

С. Ф. Городецька

Відділ експериментальної терапії Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Одним з шляхів подолання тканинної несумісності є пригнічення імунологічного конфлікту з допомогою імунодепресивного впливу. Як імунодепресанти застосовані антиметаболіти, стероїди, алкілуючі агенти. Активність імунологічного бар'єра може бути пригнічена використанням фізичних факторів впливу, зокрема рентгенівського проміння. Саме вони були застосовані в перших дослідах з пересадки серця людині від людини. Проте при такому методі застосування іонізуючої радіації викликало не тільки пригнічення імунологічних реакцій, які зумовлюють відторгнення пересадженого органа або тканини, але часто призводило до зниження захисних реакцій всього організму, а в ряді випадків до розвитку явищ променевої хвороби. Широке застосування дістали біологічні препарати, як АЛС і АЛГ, що пригнічують лімфоцитарну реакцію, яка відіграє основну роль в імунодепресивному ефекті і процесі відторгнення при пересадці органів і тканин, не викликаючи тяжких порушень інших механізмів загальної реактивності організму [1—4, 8, 9]. Водночас в експерименті і клініці розроблюються методи пригнічення трансплантаційного імунітету шляхом комбінованого застосування різних імунодепресантів.

В літературі є дані про те, що при хронічному впливі електромагнітних радіохвиль надвисокочастотного діапазону у опромінених тварин відбувалось тимчасове зменшення кількості лімфоцитів у периферичній крові. Це послужило підставою використати в наших експериментах апарат «Луч-58» — джерело електромагнітних радіохвиль сантиметрового діапазону.

Беручи до уваги актуальність проблеми, у відділі експериментальної терапії Інституту фізіології розроблено метод підсилення цитотоксичної імунодепресивної дії АЛС і АЛГ шляхом комбінованого їх застосування з фізичним фактором впливу — електромагнітними радіохвилями.

Методика досліджень

Дослідження комбінаторного пригнічувального впливу фізичного і біологічного імунодепресорів провадилось шляхом послідовного проведення курсу НВЧ-опромінення, яке призводить до розвитку локальних змін у лімфатичній тканині, з дальшим одноразовим введенням АЛС і АЛГ.

Досліди провадили на кроликах, яких опромінювали електромагнітними радіохвилями щільністю потоку потужності (ЩПП) 100 *мвт/см*^{2}. Проведення опромінення

при заданій інтенсивності передбачає експонування тварини в НВЧ-полі на певних відстанях від випромінювача. Це досягалося фіксацією кроликів на спеціальному станку, який дозволяє зафіксувати кінцівки тварини. Локального хронічного опромінення зазнавала область тимуса, шийних, підщелепових, брижових лімфовузлів і область селезінки, що досягалось підбором відповідної антени.

Після семи — десятиразового опромінення тваринам підшкірно одноразово вводили 0,5 *мл/кг* собачих АЛС. Як антиген для вироблення АЛС були використані ізольовані клітини кролячих лімфовузлів у кількості 10^7 клітин на одну ін'єкцію. Підрахування клітин провадилось у камері Горяєва безпосередньо перед імунізацією тварин. Життєздатність лімфоцитів визначали методом суправітального забарвлення 0,1%-ним розчином трипанової синьки. Проведена серологічна характеристика одержаних АЛС в реакції зв'язування комплементу РЗК. З АЛС виділено гамма-глобулін за методом Кендаля, перевірено в ньому вміст білка і титр в РЗК.

Ефективність одержаних АЛС оцінювали за впливом на розвиток лімфопенічної реакції в периферичній крові тварин (зменшення абсолютної і відносної кількості лімфоцитів), а також за впливом на деякі імунологічні реакції (тривалість життя шкірних трансплантатів).

Результати досліджень та їх обговорення

Уже після п'яти сеансів НВЧ при ЩПП 100 *мвт/см*^{2} та 10-хвилинній експозиції проявилась тенденція до зменшення кількості лімфоцитів, а після десяти сеансів опромінення області тимуса, шийних, підщелепових, пахвових лімфовузлів, а також брижових і шлунково-панкреатичних — кількість лімфоцитів, і абсолютна, і відносна, достовірно зменшувалась у порівнянні з вихідними даними. З табл. 1 видно, що коли вихідна відносна кількість лімфоцитів до впливу НВЧ становила 62,9%, то після десятиразового опромінення відносна кількість лімфоцитів достовірно знижувалась до 28,6%, продовжуючи залишатися на низькому рівні, в порівнянні з вихідними даними, на 10—15-у доби після припинення опромінення. Відновлення відносної кількості лімфоцитів здійснювалось лише на 20—30-у доби після припинення сеансів опромінення. Аналогічні зміни виявлені і щодо абсолютної кількості лімфоцитів.

У контрольній серії досліджень (табл. 2) тварини не зазнавали впливу НВЧ, АЛС і АЛГ, у них не відзначено достовірних відмінностей у вмісті лейкоцитів, а також абсолютній і відносній кількості лімфоцитів у всі строки досліджень (1-, 10-, 15-, 20-, 30-а доби).

Застосовуючи комбінаторний вплив НВЧ-опромінення з АЛС і АЛГ, вдалося відтворити більш стійку лімфопенію, яка зберігається протягом тривалого часу (табл. 3 і 4). Поєднуючи десятиразове опромінення тварин з наступним одноразовим введенням АЛС і АЛГ, вдалося відтворити стійку лімфопенію тривалістю у більшості тварин близько місяця (табл. 3 і 4). У серії дослідів із застосуванням НВЧ і АЛС (табл. 3) при відсутності змін у кількості лейкоцитів периферичної крові виявлене чітке зменшення відносної і абсолютної кількості лімфоцитів у всі строки досліджень з відновленням до вихідного рівня на 30-у добу. У серії дослідів з комбінаторним впливом НВЧ-випромінювань і АЛГ у експериментальних кроликів були виявлені незначні зміни червоної крові — зменшення вмісту гемоглобіну. На 30-у добу кількість гемоглобіну у них досягала вихідних величин. Вміст лейкоцитів достовірно не змінювався в усі строки дослідження. При комбінованому впливі НВЧ-терапії і АЛГ (табл. 4) відносна і абсолютна кількість лімфоцитів знижувалась і стійко підтримувалась на низькому рівні до 30-доби. На відміну від попередніх серій досліджень, відновлення абсолютної і відносної кількості лімфоцитів на 30-у добу не відзначено.

Якщо при застосуванні АЛГ відновлення кількості лімфоцитів здійснювалось на десяту добу, то у тварин, у яких застосований комбі-

Таблиця 1

Зміна абсолютної і відносної кількості лімфоцитів і лейкоцитів ($M \pm m$) при впливі електромагнітних радіохвиль

Досліджувані показники	Вихідні дані	Після 10 сеансів НВЧ	Дні після пересадки					Тривалість приживлення шкірного клаптя (в днях), $M \pm m$
			1	10	15	20	30	
Кількість лейкоцитів	8930 ±379,6	9860 ±806,0 $p > 0,05$	9335,0 ±762,4 $p > 0,05$	8675,0 ±460,4 $p > 0,05$	8075 ±624,9 $p > 0,05$	8970 ±873,44 $p > 0,1$	9400,0 ±1058,4 $p > 0,05$	18,9 ±1,5089
Відносна кількість лімфоцитів	62,9 ±2,57	28,6 ±2,97 $p < 0,05$	39,9 ±2,97 $p < 0,05$	44,0 ±5,93 $p < 0,05$	53,5 ±4,84 $p > 0,05$	58,2 ±3,108 $p > 0,1$	62,1 ±3,523 $p > 0,1$	
Абсолютна кількість лімфоцитів	5563,6 ±301,2	2914,1 ±338,49 $p < 0,05$	3679,5 ±381,15 $p < 0,05$	3738,2 ±488,07 $p < 0,05$	4159,6 ±364,6 $p > 0,05$	4950 ±513,3 $p > 0,05$	5617,9 ±382,36 $p > 0,05$	

Таблиця 2

Зміна абсолютної і відносної кількості лімфоцитів і лейкоцитів ($M \pm m$) контрольних тварин

Досліджувані показники	Вихідні дані	Дні після пересадки					Тривалість приживлення шкірного клаптя (в днях), $M \pm m$
		1	10	15	20	30	
Кількість лейкоцитів	7466,8 ±199,02	7676,8 ±516,63 $p > 0,05$	7966,8 ±480,01 $p > 0,05$	8125,2 ±532,9 $p > 0,01$	8491,8 ±577,6 $p > 0,05$	8135,2 ±579,3 $p > 0,05$	8,16 ±0,87 —
Відносна кількість лімфоцитів	62,5 ±2,109	53,6 ±6,08 $p > 0,05$	63,1 ±3,41 $p > 0,01$	57,1 ±2,52 $p > 0,05$	62,7 ±1,38 $p > 0,01$	62,1 ±1,19 $p > 0,05$	
Абсолютна кількість лімфоцитів	4665,2 ±244,2	4180,8 ±673,1 $p > 0,05$	5051,3 ±494,03 $p > 0,05$	4655,3 ±387,9 $p > 0,01$	5302,9 ±340,2 $p > 0,05$	5088,4 ±402,7 $p > 0,05$	

Таблиця 3

Зміна абсолютної і відносної кількості лімфоцитів і лейкоцитів ($M \pm m$) при комбінованому впливі АЛС і електромагнітних радіо-хвиль

Досліджувані показники	Вихідні дані	Після 10 сеансів НВЧ+АЛС	Дні після пересадки					Тривалість приживлення шкірного клаптя (в днях), $M \pm m$
			1	10	15	20	30	
Кількість лейкоцитів	9070 ±401,47	8740 ±803,94 $p>0,05$	9250 ±668,26 $p>0,05$	9985 ±700,89 $p>0,01$	9115 ±525,77 $p>0,05$	9065 ±507,10 $p>0,1$	9320 ±335,92 $p>0,05$	24,1 ±4,762
Відносна кількість лімфоцитів	58,8 ±3,77	32,2 ±2,74 $p<0,05$	31,5 ±3,85 $p<0,05$	33,3 ±3,60 $p<0,05$	51,1 ±3,51 $p>0,05$	54,6 ±4,59 $p>0,01$	59,1 ±4,32 $p>0,05$	
Абсолютна кількість лімфоцитів	5349,6 ±427,69	2749,4 ±295,32 $p<0,05$	2878,0 ±383,1 $p<0,05$	3373,9 493,06 $p<0,05$	4623,0 390,07 $p>0,05$	4886,1 503,19 $p>0,1$	5485,4 446,01 $p>0,05$	

Таблиця 4

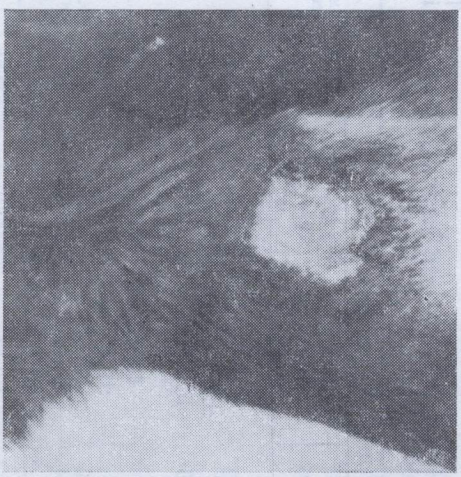
Зміна абсолютної і відносної кількості лімфоцитів і лейкоцитів ($M \pm m$) при комбінованому впливі АЛГ і електромагнітних радіо-хвиль

Досліджувані показники	Вихідні дані	Після 10 сеансів НВЧ+АЛГ	Дні після пересадки					Тривалість приживлення шкірного клаптя (в днях), $M \pm m$
			1	10	15	20	30	
Кількість лейкоцитів	7220 ±659,44	7955 ±737,4 $p>0,05$	8615 ±472,86 $p>0,05$	8355 ±541,32 $p>0,05$	6890 ±422,29 $p>0,05$	8200 ±577,36 $p>0,01$	7990 ±420,71 $p>0,05$	26,3 ±2,124
Відносна кількість лімфоцитів	56,8 ±3,08	35,2 ±2,56 $p<0,05$	35,1 ±2,13 $p<0,05$	36,8 ±2,58 $p<0,01$	43,6 ±3,90 $p<0,01$	49,2 ±3,93 $p<0,05$	50,2 ±3,80 $p>0,05$	
Абсолютна кількість лімфоцитів	4097,3 ±475,78	2877,3 ±420,98 $p<0,05$	3118,2 ±334,32 $p<0,05$	3318,4 ±382,95 $p<0,05$	3069,5 ±437,02 $p<0,01$	4136,8 ±492,18 $p>0,05$	4076,6 ±450,41 $p>0,05$	

нований вплив НВЧ і АЛГ (при одноразовому введенні) навіть на 60-у добу кількість лімфоцитів не досягала вихідних величин.

В усіх чотирьох серіях дослідів не відзначено істотних змін червоної крові — гемоглобіну і кількості еритроцитів периферичної крові.

Наступним етапом досліджень було застосування АЛС і АЛГ в поєднанні з НВЧ-терапією в дослідах з пересадкою шкірних трансплантатів. Проведено чотири серії дослідів. І серія — застосування НВЧ-терапії при пересадках шкірних трансплантатів; II серія — поєднаний вплив НВЧ-опромінення і одноразового введення АЛС; III серія — поєднаний вплив НВЧ-опромінення і АЛГ: IV серія — контрольні досліди без застосування імунодепресивних засобів при пересадці шкірних клаптів.



Вплив НВЧ-опромінення на тривалість життя шкірного трансплантата.

В усіх серіях провадили строгий гематологічний контроль як до пересадок, так і до моменту відторгнення шкірного трансплантата. Як правило, відторгнення шкірного трансплантата збігалося з відновленням абсолютної і відносної кількості лімфоцитів у периферичній крові. Гематологічні дослідження були контролем при введенні АЛС і АЛГ для регуляції і для підтримання абсолютної і відносної кількості лімфоцитів у крові на належному рівні.

У першій серії дослідів із застосуванням НВЧ-опромінення до пересадки спостерігалось більш тривале приживлення шкірних трансплантатів у порівнянні з контрольними тваринами. Якщо у контрольних тварин відторгнення клаптя відбувалося на восьму — десяту доби (табл. 2), то десятиразове НВЧ-опромінення приводило до подовження строків приживлення шкірних трансплантатів до 18 — 19 днів (табл. 1).

На рисунку показаний вплив НВЧ-опромінення на тривалість життя шкірного трансплантата. На 13-у добу стан шкірного клаптя у кролика № 51 був задовільним. Кровопостачання клаптя цілком задовільне, відзначено ріст шерстного покриву на трансплантаті. Відторгнення клаптя відбулося на 19-у добу після пересадки. У контрольного неопроміненого кролика клапоть засохнув на восьму добу.

Ще більш тривале приживлення шкірних трансплантатів вдалося одержати при комбінованому застосуванні НВЧ-опромінення з дальшим введенням АЛС або АЛГ. У II серії досліджень при комбінованому впливі НВЧ-опромінення і АЛС відторгнення на 24-у добу (табл. 3). У цій серії дослідів у кролика № 3 відторгнення трансплантата відбулося лише на 66-у добу. У більшості кроликів цієї серії підсихання клаптів відзначено на 23—25-у доби.

У III серії дослідів поєднаний вплив НВЧ-опромінення з дальшим введенням АЛГ (одноразовим, підшкірним, на третю добу після пересадки) призводив до найбільш тривалих строків приживлення шкірних трансплантатів. У більшості тварин цієї серії відторгнення клаптя відбувалось на 25 — 26-у доби (табл. 4).

Одержані дані свідчать про доцільність застосування, як одного з методів боротьби з тканинною несумісністю, АЛС у поєднанні з електромагнітними радіохвилями, оскільки цим досягається вибіркове пригнічення імунокомпетентних клітин і тканин без зменшення загальної кількості лейкоцитів у периферичній крові.

Висновки

1. Відзначена кореляція між зменшенням абсолютної і відносної кількості лімфоцитів периферичної крові та подовженням тривалості життя шкірних трансплантатів при введенні інгібуючих доз АЛС і АЛГ.
2. Середня тривалість життя шкірних трансплантатів при поєднаному впливі АЛГ і НВЧ становить 26 днів, що в три рази перевищує тривалість життя клаптів контрольної серії досліджень.
3. Інгібуючий вплив НВЧ-опромінення посилюється наступним одноразовим введенням АЛС і АЛГ.

Література

1. Ноуза К., Говалло В. И.— Хирургия, 1968, 1, 132.
2. Петров Р. В., Манько В. М.— Иммунодепрессоры, М., «Медицина», 1971.
3. Петров И. Р.— В кн.: Влияние СВЧ-излучений на организм человека и животных, Л., 1970.
4. Петровский Б. В., Вестник АН СССР, 1970, 10, 57.
5. Питенин И. В.— В кн.: Медико-биол. проблемы СВЧ-излучений, Л., 1966, 53.
6. Спасокукоцкий Ю. А., Городецкая С. Ф., Тимошенко Ю. Г.—В кн.: Цитотоксины в соврем. мед., К., 1972.
7. Суббота А. Г.— В кн.: Медико-биол. проблемы СВЧ-излучений, Л., 1966, 83.
8. Fritz H., Bach M., Bach L.— Fed. Proc., 1970, 29, 130.
9. Mitchison N.— Fed. Proc., 1970, 29, 222.
10. Butler W.— J. of Immunol., 1971, 106, 1.

Надійшла до редакції
6.VI 1973 р.

COMBINED EFFECT OF ALS AND ALG AND ELECTROMAGNETIC RADIOWAVES ON THE ABSOLUTE AND RELATIVE NUMBER OF LYMPHOCYTES IN PERIPHERAL BLOOD WITH TRANSPLANTATION OF SKIN TRANSPLANTATS IN EXPERIMENT

S. F. Gorodetskaya

Department of Experimental Therapy, the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Summary

A possibility is shown in the experiment to decrease for a long time the absolute and relative number of lymphocytes without lowering essentially the total amount of leucocytes in the rabbit peripheral blood with subcutaneous injection of ALS and ALG in combination with the effect of the electromagnetic radiowaves. A correlation is found between the decrease in the absolute and relative number of the peripheral blood lymphocytes and an increase in the lifetime of skin transplantats. Under the combined effect of ALG and SHF the average lifetime of the skin transplantats was thrice as high as in the control series of the experiments. The experimental data obtained showed a possibility to intensify the immune-depressive effect of ALS and ALG by applying electromagnetic radiowaves of a centimetre range.