

УДК 616.365.018.53

М. І. Лісяний, Л. Т. Шут, В. І. Ліннік

ПРО ВПЛИВ АНТИТИМУСНОЇ СІРОВАТКИ НА КЛІТИННІ ПРОЦЕСИ УТВОРЕННЯ АНТИТІЛ ДО ЕРИТРОЦИТІВ БАРАНА У ЩУРІВ

Відомо, що для утворення імунної відповіді необхідні як «іmunні» макрофаги [8, 13, 19] або їх нуклеотидні комплекси [5, 8, 13], так *T* і *B* лімфоцити [11]. При цьому передбачається, що «іmunні» макрофаги взаємодіють з *T*-лімфоцитами [9, 17].

Отже гадають, що утворення антитіл є результатом кооперативної взаємодії різних типів клітин і при цьому передбачається існування кількох послідовних етапів, починаючи з взаємодії антигену з макрофагами і закінчуючи утворенням антитіл лімфоїдними клітинами [12]. Для уточнення деяких положень кооперації досить цінними можуть виявитися антилімфоцитарні сироватки різної специфічності. Особливо в цьому плані вивчається антилімфоцитарна сироватка, яка має виражену імунодепресивну дію як при реакціях клітинного, так і гуморального типу [2, 6, 15, 18, 20].

Дія АЛС на гуморальну імунну відповідь залежить від інтервалу між введенням антигену і сироватки. Пригнічуючий вплив відзначається тільки на ранніх етапах імунної відповіді [1, 3].

Вплив же АЛС на кооперативні взаємодії макрофагів з *T* і *B* лімфоцитами досі недостатньо вивчений.

Ми досліджували вплив антитимусної сироватки на взаємодію «іmunних» макрофагів з лімфоцитами при утворенні антитіл щурами. В експериментах застосована модель переносу «іmunних» макрофагів інтактним реципієнтам [7, 13].

Методика досліджень

У щурів відтворювали перитонеальний ексудат і інкубували його з еритроцитами барана *in vitro*. Після інкубації нефагоцитовані еритроцити видаляли, а макрофаги вводили інтактним щурам, у яких досліджували вміст антитіл у сироватці крові. Впливу АТС зазначали донори макрофагів або реципієнти.

Досліди проведені на безпородних білих щурах вагою 180—220 г у трьох серіях по 12 тварин у кожній.

Антитимусну сироватку одержували від кроликів, імунізованих $1,5 \cdot 10^9$ тимоцитів у три місця на 1; 3 і 15 день. Кров брали на восьму добу після останньої ін'єкції тимоцитів, одержану сироватку інактивували та адсорбували еритроцитами щурів. Титр лімфоцитотоксинів, визначених за методом Горера [14], становив 1:512.

Макрофаги одержували за методом Кабанової [5]. Процент макрофагів в ексудаті становив 78—90%. Одержаний перитонеальний ексудат після відмивання зважували в середовищі 199 та інкубували при 37°C протягом 1,5 год з еритроцитами барана з розрахунку 20—25 еритроцитів барана на 1 макрофаг. Нефагоцитовані еритроцити лізували, інкубуючи завись клітин з дворазовим об'ємом H_2O протягом 30 г. Сольовий склад завись відновлювали такою ж кількістю дворазового розчину Хенкса. Після цього завись макрофагів дворазово відмивали від лізату еритроцитів і вводили реципієнтам по $0,8-1,0 \cdot 10^7$ або $0,8-1,0 \cdot 10^6$ макрофагів.

Досліди проведені в трьох серіях по дві групи тварин у кожній (тваринам першої групи вводили велику дозу макрофагів і тваринам другої групи — малу дозу). В першій серії досліджували динаміку антитілоутворення реципієнтами «іmunних» макрофагів на

Про вплив антитимусної сироватки

фоні нормальної кролячої сироватки (і АТС на реципієнтів «іmunних» макрофагів) вплив АТС на донорів макрофагів, при АТС. У піддослідних тварин визначали крові на 7, 14 і 21 день. Реакції гемолізу тим методом.

Результ

Результати досліджень сироватки, які одержували по 0,2 мл і за 1 год до введення «іmunних»

Рис. 1. Зміна вмісту гемолізину і гемоглобіну у щурів при переносі «іmunних» макрофагів на фоні нормальної кролячої сироватки. а — вміст гемолізину сироватки щурів, які одержували $0,8-1,0 \cdot 10^7$ макрофагів (I група); б — вміст гемолізину сироватки крові цих самих тварин одержували $0,8-1,0 \cdot 10^6$ макрофагів (II група); в — вміст гемоглобіну сироватки крові цих самих тварин. По вертикалі — вміст гемолізину, по горизонталі — час, днів.

видно, що гемолізину і гемоглобіну рин обох груп протягом усього на сьому добу. Згодом вміст гемоглобіну залишались на попередньому рівні, а вміст гемолізину макрофагів, і лише на 21 добу знизився. У піддослідних тварин одержували $0,8-1,0 \cdot 10^7$ макрофагів в дозі $0,8-1,0 \cdot 10^7$ клітин. При ревакцинації дослідів на 21 день після введення еритроцитів барана) спостерігали після ревакцинації.

У другій серії дослідів $0,2$ мл АТС за добу і за 1 год тати визначення титрів антител.

У цій серії дослідів у тварин одержували $1,0 \cdot 10^7$ «іmunних» макрофагів чалась на сьому добу, тоді дуже малому титрі (у двох з у первинному розведенні 1: вався на 14 добу, а показники вали на низькому рівні, до гемоглобіну, так і гемолізину).

У тварин другої групи одержували $1,0 \cdot 10^6$ макрофагів, спостерігали на сьому добу, що першої серії, але й групи тварин макрофагів. Вміст гемоглобіну нижчим, ніж у тварин подібної групи.

На 14 добу після введення другої серії відзначалось зниження вмісту гемоглобіну, як і в

фоні нормальної кролячої сироватки (контрольна серія). В другій серії вивчали вплив АТС на реципієнтів «іmunних» макрофагів, а в останній, третій серії досліджували вплив АТС на донорів макрофагів, при цьому реципієнти макрофагів зазнавали впливу АТС. У піддослідних тварин визначали вміст гемаглютинінів і гемолізінів у сироватці крові на 7, 14 і 21 день. Реакції гемолізу і гемаглютинації ставили за загальноприйнятим методом.

Результати досліджень

Результати досліджень сироватки крові піддослідних тварин першої серії, які одержували по 0,2 мл нормальної кролячої сироватки за добу і за 1 год до введення «іmunних» макрофагів, наведені на рис. 1, з якого

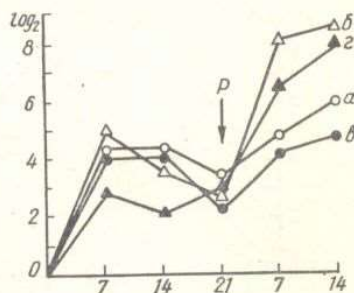


Рис. 1. Зміна вмісту гемолізінів і гемаглютинінів у сироватці крові при переносі «іmunних» макрофагів на фоні нормальної кролячої сироватки.

а — вміст гемолізінів сироватки шурів, які одержали $0,8-1,0 \cdot 10^7$ макрофагів (I група); б — вміст гемаглютинінів сироватки крові цих самих тварин; в — вміст гемолізінів сироватки крові шурів, які одержували $0,8-1,0 \cdot 10^6$ макрофагів (II група); г — вміст гемаглютинінів цих самих тварин. По вертикалі — $\log_2$ утворення титру антитіла, по горизонталі — дні досліджень.

видно, що гемолізини і гемаглютиніни визначали в сироватці крові тварин обох груп протягом усього спостереження. Найбільші титри виявлені на сьому добу. Згодом вміст гемолізінів дещо знижувався, а титри гемаглютинінів залишались на попередньому рівні до 14 дня після введення макрофагів, і лише на 21 добу титри гемаглютинінів і гемолізінів знижувались. У піддослідних тварин другої групи цієї серії, які одержали «іmunні» макрофаги в дозі $0,8-1,0 \cdot 10^6$ клітин, іmunна відповідь була нижчою, ніж у групі тварин, яким вводили «іmunні» макрофаги в дозах $0,8-1,0 \cdot 10^7$ клітин. При ревакцинації піддослідних тварин першої серії дослідів на 21 день після введення макрофагів (0,5 мл 30% завісі еритроцитів барана) спостерігалася виразна іmunна відповідь на 7 і 14 день після ревакцинації.

У другій серії дослідів реципієнтам макрофагів було введено по 0,2 мл АТС за добу і за 1 год до переносу «іmunних» макрофагів. Результати визначення титрів антитіла сироватки крові наведені на рис. 2.

У цій серії дослідів у тварин першої групи, які одержували по $0,8-1,0 \cdot 10^7$ «іmunних» макрофагів, максимальна кількість гемолізінів визначалась на сьому добу, тоді як гемаглютиніни в цей час виявлялись у дуже малому титрі (у двох з п'яти тварин антитіла не виявлялись навіть у первинному розведенні 1:4). Згодом титр гемаглютинінів підвищувався на 14 добу, а показники гемолізінів різко знижувались і перебували на низькому рівні, до 21 доби відбувалось зниження титрів як гемаглютинінів, так і гемолізінів.

У тварин другої групи цієї серії дослідів, які одержали по $0,8-1,0 \cdot 10^6$ макрофагів, спостерігалось значне посилення утворення гемолізінів на сьому добу, що перевищує не тільки відповідну групу контрольної серії, але й групи тварин, які одержали $0,8-1,0 \cdot 10^7$ «іmunних» макрофагів. Вміст гемаглютинінів на сьому добу у тварин даної групи був нижчим, ніж у тварин подібної групи контрольної серії.

На 14 добу після введення «іmunних» макрофагів у другій групі другої серії відзначалось зниження титру гемолізінів та значне збільшення вмісту гемаглютинінів, як і у першій групі цієї серії.

На 21 добу відбувалось зниження вмісту як гемаглютининів, так і гемолізінів.

При ревакцинації на 21 добу у тварин другої серії відзначалась імунна відповідь такої ж інтенсивності, як у тварин першої серії.

У третій серії дослідів для вивчення впливу АТС на макрофаги, а також на незначну домішку лімфоцитів, які містяться в перитонеальному ексудаті, антитимусну сироватку вводили дворазово по 0,2 мл за добу і за 1 год до одержання перитонеального ексудату донорам макрофагів.

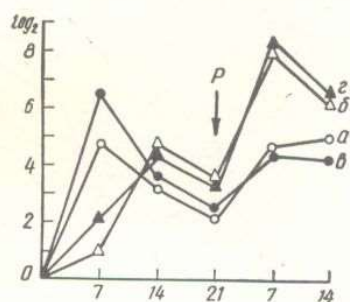


Рис. 2. Зміна вмісту гемолізінів і гемаглютининів у щурів при переносі «іmunних» макрофагів на фоні АТС.

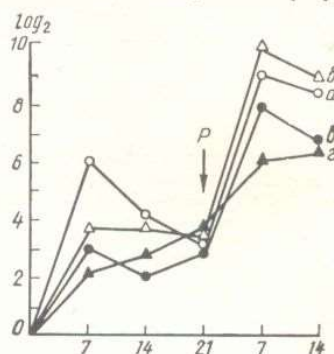


Рис. 3. Зміна вмісту гемолізінів і гемаглютининів у щурів, які одержали макрофаги від донорів, яким вводили АТС.

Результати цих дослідів наведені на рис. 3, з якого видно, що в групі тварин, які одержали по $0,8-1,0 \cdot 10^7$ макрофагів, на сьому добу відзначалась виразна імунна відповідь з утворенням як гемолізінів, так і гемаглютининів. Згодом відбувалось зниження титрів як гемаглютининів, так і гемолізінів.

У другій групі тварин третьої серії дослідів спостерігалась незначна імунна відповідь з максимальними титрами гемолізінів і гемаглютининів на сьому добу та з наступним зниженням вмісту антитіл на 14—21 день.

Дещо підвищений вміст антитіл у тварин першої групи третьої серії можна пов'язати з тим, що реципієнти макрофагів третьої серії, на відміну від попередніх серій, не одержували гетеробілка (у вигляді нормальної кролячої сироватки або АТС) тобто у них не було ефекту конкуренції антигенів. При ревакцинації тварин третьої серії відзначалась імунна відповідь, як і в попередніх серіях.

Отже, проведені дослідження показують, що АТС навіть у невеликих дозах здатна змінювати динаміку гуморальної відповіді.

Так, у другій серії дослідів при переносі «іmunних» макрофагів АТС обробленим реципієнтам відзначалась зміна динаміки синтезу гемаглютининів і гемолізінів у процесі імунної відповіді. При цьому спостерігалось утворення гемолізінів (комплементзв'язувальних, цитотоксичних) та гальмування синтезу гемаглютининів (які не зв'язують комплемент і блокують антитіла), а в більш віддалені строки (14 діб) відзначалось зниження вмісту гемолізінів.

Ці результати підтверджують літературні дані про зміну під впливом АТС динаміки імунної відповіді, синтезу 19s і 7s антитіл [1, 16].

Крім того, на підставі проведених досліджень можна зробити висновок про те, що АТС впливає на гуморальну імунну відповідь на етапі взаємодії «іmunних» макрофагів з лімфоїдними клітинами реципієнта,

впливаючи на них; вона не впливає з антигеном і викликати утворення пієнтам.

Ви

1. При введенні АТС реципієнтам змінювалась динаміка імунної відповіді.
2. АТС впливає на гуморальну взаємодію «іmunних» макрофагів.

Літ

1. Антоненко В. Т. Об особенностях антилимфоцитарной и антимакиев, «Здоров'я», 1974, с. 141—144.
2. Антоненко В. Т., Гитис Е. Т., Кейсевич Л. В., Зюбина Н. А. Реакции немедленного и замедленного иммунного ответа. — В сб.: Иммунология, 1971, с. 5—7.
3. Вихман А. А., Карасик О. А., Козлов В. В. Клетки к действию антилимфоцитоза. — Бюлл. экспер. биол. и мед., 1972, с. 26—27.
4. Войлочкова Р. Е. Изучение действия антилимфоцитарной сыворотки. — В сб.: Иммунодепрессия, с. 26—27.
5. Кабанова Е. А., Конорин И. И. РНК выделенной из макрофагов, инфекционной патологии и иммунной системы. — Бюлл. экспер. биол. и мед., 1972, № 5, с. 43—47.
6. Карасик О. А., Софронов Б. В. Аллергические реакции замедленного типа. — В сб.: Иммунодепрессия, с. 26—27.
7. Моргунов И. Н., Оргель М. В. Выводить синтез антител в культуре лимфоцитов. — В сб.: Иммунодепрессия, с. 26—27.
8. Askonas B., Rhodes Y. Immune preparations from macrophage. — J. Immunol., 1972, 118, 5, p. 380—384.
9. Askonas B., Roelants L. M. Inducers for T and B lymphocyte differentiation. — Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1966, 121, 1, p. 124—126.
10. Clalam H., Chaperon E., T. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1966, 121, 1, p. 124—126.
11. Davies A., Lenchars E. W. Thymus-derived cells to antigen. — J. Immunol., 1972, 118, 5, p. 380—384.
12. Feldman M., Nossal Y. Cell Review of Biology, 1972, 3, p. 124—126.
13. Fishman M. Antibody formation. — J. Immunol., 1972, 118, 5, p. 380—384.
14. Gorer R., O'Gorman P. The plant. Bull., 1956, 3, p. 142—152.
15. Hrubá A., Paluska E., K. lymphocytes of immunized rats. — J. Immunol., 1972, 118, 5, p. 380—384.
16. Kerbel R., Eillinger D. V. of thymus dependence of antigen. — J. Immunol., 1972, 118, 5, p. 380—384.
17. Klaus G. Generation of thymus. — Cell. Immunol., 1974, 10, 3, p. 124—126.
18. Levey R., Medawar P. Som. — Ann. N. Y. Acad. Sci., 1966, 137, 1, p. 124—126.
19. Mosier D. A requirement for Science, 1967, 158, p. 1575—1578.
20. Waksman B., Arbougs S. antiserum to inhibit hypersensitivity. — J. Immunol., 1972, 118, 5, p. 380—384.

Центральна науково-дослідна лабораторія Київського інституту удосконалення

так і впливаючи на них; вона не впливає на здатність макрофагів взаємодіяти з антигеном і викликати утворення антитіл при переносі інтактним реципієнтам.

Висновки

1. При введенні АТС реципієнтам «іmunних» макрофагів спостерігалась зміна динаміки імунної відповіді.
2. АТС впливає на гуморальну імунну відповідь на клітинному етапі взаємодії «іmunних» макрофагів з лімфоїдними клітинами організму.

Література

1. Антоненко В. Т. Об особенностях развития анафилактики в условиях применения антилимфоцитарной и антимакрофагальной сывороток. — В сб.: Аллергия, Киев, «Здоров'я», 1974, с. 141—144.
2. Антоненко В. Т., Гитис Е. Т., Тимченко А. С., Андрейченко В. А., Кейсевич Л. В., Зюбина Н. П. Влияние АЛС на развитие аллергической реакции немедленного и замедленного типа на примере анафилактики и трансплантационного иммунитета. — В сб.: Иммунодепрессия и аллотрансплантация, Ташкент, «Фан», 1971, с. 5—7.
3. Вихман А. А., Карасик О. А., Сафронов В. П. Чувствительность лимфоидных клеток к действию антилимфоцитарной сыворотки на разных этапах иммуногенеза. — Бюлл. exper. биол. и мед., 1971, № 5, с. 78—80.
4. Войлокова Р. Е. Изучение действия АЛС на клетки селезенки методом Эрне и розетки. — В сб.: Иммунодепрессия при аллотрансплантации. Ташкент, «Фан», 1971, с. 26—27.
5. Кабанова Е. А., Конорин И. Н., Рыбкина Н. Н. Индукция синтеза антител РНК выделенной из макрофагов, инкубированных с антигенами. — В сб.: Вопросы инфекционной патологии и иммунологии. М., 1968, 4, с. 76—80.
6. Карасик О. А., Софронов Б. М. Действие антилимфоцитарной сыворотки на аллергические реакции замедленного типа. — Патол. физиол. и exper. терапия, 1972, № 5, с. 43—47.
7. Моргунов И. Н., Оргель М. Я., Грутман М. И. Способность макрофагов вызывать синтез антител в культуре лимфоцитов. — Журн. микробиол., 1970, 4, № 1, с. 70—75.
8. Askanas B., Rhodes Y. Immunogenicity of antigen containing ribonucleic acid preparations from macrophage. — Nature, 1965, 250, p. 470—471.
9. Askanas B., Roelants L. Macrophages bearing hapten-carrier molecules as loci inducers for T and B lymphocyte interaction. — Eur. J. Immunol., 1974, 4, 1, p. 1—4.
10. Clalam H., Chaperon E., Triplett R. Synergism in antibody production. — Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1966, 122, p. 1167—1173.
11. Davies A., Lenchars E., Wallis V., Koller P. The mitotic response of thymus-derived cells to antigenic stimulus. — Transplantation, 1966, 4, p. 438—446.
12. Feldman M., Nossal Y. Cellular basis of antibody production. — The quartestly Review of Biology, 1972, 3, p. 124—139.
13. Fhishman M. Antibody formation in vitro. — J. Exper. med., 1961, 114, p. 837—841.
14. Gorer R., O'Gorman P. The cytotoxic activity of isoantibodies in mice. — Transplant. Bull., 1956, 3, p. 142—152.
15. Hrubá A., Paluska E., Krécek M. Effect of antilymphocyte serum against lymphocytes of immunized rats on antibody formation to erythrocytes. — Folia biol. CSSR, 1972, 18, 5, p. 380—384.
16. Kerbel R., Eillinger D. Variable effect of ALS on humoral antibody formation of thymus dependence of antigen. — J. Immunol., 1971, 106, p. 917—926.
17. Klaus G. Generation of thymus derived helper cells by macrophage associated antigen. Cell. Immunol., 1974, 10, 3, p. 483—488.
18. Levey R., Medawar P. Some experiments on the action of antilymphoid antiserum. — Ann. N. Y. Acad. Sci., 1966, 129, p. 164—168.
19. Mosier D. A requirement for two cell types for antibody formation in vitro. — Science, 1967, 158, p. 1575—1578.
20. Waksman B., Arbougs S., Arnason B. The use of specific «lymphocyte» antiserum to inhibit hypersensitive reaction of the delayed type. — J. Exper. Med., 1961, 114, p. 997—1013.

Центральна науково-дослідна лабораторія
Київського інституту удосконалення лікарів

Надійшла до редакції
15. V. 1975 р.

N. I. Lisjany, L. T. Shoot, V. I. Linnik
 EFFECT OF ANTITHYMUS SERUM ON CELLULAR PROCESSES
 OF FORMATION OF ANTIBODIES TO RAM ERYTHROCYTES
 IN RATS

Summary

Synthesis of rats antibodies as affected by ATS was studied on the model of the primary immune response induction with transfer of the «immune» macrophages to the intact recipients. The «immune» macrophages were obtained by incubating the intact cells of the peritoneal exudate with ram erythrocytes in vitro. ATS (or the normal rabbit serum in the control) was introduced to donors or recipients of «immune» macrophages. It was established that ATS introduced to the macrophages recipients changed dynamics of antibodies formation, evoking inhibition of agglutinins, and had a minor effect on the level of hemolysins. The cellular stage of the «immune» macrophages interaction with the donor lymphocytes is supposed to be the spot of ATS action, as at the stage of the antigen perception by the macrophages the ATS effect was not pronounced.

Central Research Laboratory,
 Advanced Training Institute for Doctors, Kiev

УДК 616.365

О. Я. Милянєвський, А. М. М...
 А. М...

ГЕМАТОЛОГІЧНІ, МОРФОЛОГІЧНІ
 ПОКАЗНИКИ ПРИ ВНУТРІВНЬОМУ
 ВВЕДЕННІ ЦИТОСТАТИКА
 І РАДІОАКТИВНОГО

Внутрішнє введення цитостатиків порушує функції кровотворної системи, але й внутрішнє введення цитостатиків, середньо в пухлину тощо.

В літературі висловлюється думка, що розчинні хіміопрепарати при внутрішньому введенні інфундують, спричиняючи при цьому, зокрема, на органи кровотворної системи.

Ми вивчали вплив препаратів цитостатиків на організм тварин при внутрішньому введенні з результатами, одержаними.

Методи

Досліди проведені на 17 собаках, (шість собак) в лімфатичні судини з Т10-ТЕФ у 4—5 мл 0,25% розчину нових цитостатиків в лімфатичні судини інфундування цитостатичного препарату. Тваринам II групи (шість тварин) дозу вводили внутрішньо, одноразово.

Тваринам III групи (п'ять собак) 1,5—3 мкл іодоліполу з питомою ак...

Прямую лімфографію у собак здійснювали за допомогою морфіну на 1 кг ваги тварини.

В процесі дослідів брали до уваги дані радіометричного, гістологічного і деяких тканин (печінка, нирки, селезінка, мозок).

Результати

Встановлено, що у загальній групі тварин препаратів і I^{131} вводили внутрішньо. Водночас протягом введення препарату тварини не лякалися від їжі, досить м'яко весь час були напівсонними. Клітинні, еритроцитів та інших елементів препаратів та I^{131} носять нерівномірний вихідних даних відзначається в процесі лікування. При внутрішньому введенні препаратів і I^{131} в пухлину тощо.