

Література

1. Гюллинг Э. В. К методике воспроизведения хронического тонзиллита у собак.— ЖУНГБ, 1964, 3, 77.
2. Гюллинг Э. В., Мельников О. Ф., Фейгин Н. П. Синтез макроглобулинов в миндалинах людей, страдающих хроническим тонзиллитом.— ЖУНГБ, 1974, 4, 1—4.
3. Гурвич А. Е., Григорьева О. С., Корукова А. А. Сравнение действия антигена в организме и *in vitro* на разных стадиях иммунного процесса.— Бюлл. exper. биол., 1974, 10, 75—76.
4. Визиренко Л. В., Вершигора А. Е. Небные миндалины и иммунитет. Сообщ. II. Синтез в культуре *in vitro* антител лимфоидными клетками небных миндалин больных хроническим тонзиллитом.— Журн. микробиол., 1974, 10, 44—47.
5. Платаш В. И. Влияние экспериментального воспаления червеобразного отростка на иммуногенез.— Арх. пат., 1975, 37, 3, 56—62.
6. Федотов А. Ф. Морфо-гистохимические аспекты патогенеза тонзиллитов. Автореф. дисс. Киев, 1969.
7. Asherson G., Alwood G. Movement to sites of inflammation and nonspecific cytotoxicity of T-lymphocytes stimulated by antigen *in vivo* and their resemblance to lymphocytes stimulated with PNA *in vitro*.— Int. Arch. Allergy, 1973, 45, 1—2, 262—271.
8. Hirata-Hibi M., Murray J.— Acute inflammation as a prerequisite for the immune response.— Res. J. Reticuloendothel. Soc., 1974, 16, N 2, 69—74.
9. Jerne N., Nordin A. Plague formation in Agar by single antibody — Producing Cells.— Science, 1963, 140, 3565, 405.
10. Perlmann P., Perlmann H., Wassermann J., Packalen T. Lysis of Chicken Erythrocytes sensitised with PPD by Lymphoid cells from Guinea Pigs Immunised with Tubercle Bacilli.— Int. Arch. Allergy, 1970, 38, 204—216.

Лабораторія патологічної фізіології
Київського інституту отоларингології

Надійшла до редакції
25.II 1976 р.

УДК 615.365

М. І. Федоровська, В. М. Юдін

ОДЕРЖАННЯ ТА ІМУНОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ГЕТЕРОГЕННИХ СИРОВАТОК ПРОТИ ТИМОЦИТІВ ТА ТКАНИНИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЛЮДИНИ

Імунодепресивна дія антитимоцитарних цитотоксичних сироваток, їх здатність пригнічувати клітинну імунну відповідь широко відомі. Такі сироватки сприяють приживленню алотрансплантата, зменшують реакцію трансплантат проти хазяїна з боку лімфоїдних клітин, застосування їх в експериментальній онкології призводить до більш інтенсивного пухлинного росту і прискорення процесу метастазування [1, 2, 3, 5].

Головною діючою ланкою антитимоцитарних цитотоксичних сироваток є анти-тіла проти тимусзалежних лімфоцитів (Т-лімфоцитів), маркером для яких є Θ -антиген. Θ -антиген присутній також у головному мозку, і було встановлено, що гетерогенні сироватки, одержані проти тканини головного мозку мишей, можна використовувати для виділення Т-лімфоцитів [4, 6, 7, 8].

Першим етапом наших досліджень було одержання гетерогенних сироваток проти клітин тимуса людини та імунологічний їх аналіз з метою наступного використання малих доз таких сироваток для цілеспрямованої стимуляції активності Т-лімфоцитів, що, як передбачається, відіграють основну роль у протипухлинному імунитеті.

Методика досліджень

Матеріалом для одержання антимозкової цитотоксичної сироватки була кора головного мозку людини (свіжий трупний матеріал, група крові — 0 [1]). На одну імунізацію використовували 5 г матеріалу, тканину подрібнювали у гомогенізаторі Поттера з додаванням 2,5 мл фізіологічного розчину. Надалі продовжували емульгацію повним ад'ювантом Фрейнда (інгредієнти додавали 1:1) на холоді у фарфоровій ступці. Готову емульсію запаковували через верхній отвір 2 мл шприца «Рекорд» і вводили підшкірно кроликам в чотири точки (в дві точки — по 1 мл і в дві точки — по 0,5 мл). Через два тижні здійснювали другу імунізацію замороженою тканиною головного мозку.

Схема тестування гетерогенних сироваток проти тимоцитів і тканини головного мозку людини на тимоцитах людини і мишей (тестування проведено з допомогою мікроваріанта цитотоксичного тесту за % мертвих клітин)

№ і характеристика сироваток	Антиген	Розведення сироваток											
		2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096
Сироватки проти тимоцитів людського плода	A ₁ Тимоцити	70	69	86	58	76	24	48	53	40	34	37	4
	A ₂ людсько-го плода	63	63	47	31	32	25	40	19	15	11	15	6
	A ₃ людсько-го плода	46	46		22		14		18		22		
	A ₄ го плода	58	61		34		14		14		25		
	A ₁ Тимоцити мишей	36		6	10	10	9	20		9	10	12	
	A ₂ мишей	13	43	17	9		22	24	5	5			
Сироватки проти тканини головного мозку людини	B ₁ Тимоцити	31	20	25	40	20	20						
	B ₂ людсько-го плода	25	30	30	22	29	39	28					
	B ₃ го плода	18	13	17	11	18	10	23	18				
	B ₁ тимоцити мишей	57	30	26	18	23							
	B ₂ мишей	72	90	75	10	24	9						
Сироватка проти тимоцитів мишей	a ₁ Тимоцити мишей	99	99	97	96	93	97	96	95	77	87	70	
	a ₂ Тимоцити людини	36	45		53	22	18	14	10				

ку (тканину зберігали при -20°C), але без ад'юванта Фрейнда. Через 10 днів після останньої імунізації кроликів обезкровлювали через *a. carotis*, одержані сироватки інактували на протязі 45 хв при 56°C , розливали стерильно в ампули і зберігали при -20°C до моменту використання.

Матеріалом для одержання кролячих імунних сироваток проти тимоцитів людини служили загиблі в пологах зародки людей (п'ять місяців вагітності) з урахуванням віку та групи крові породіллі. Виділений із зародка тимус відмивали у розчині Хенкса без індикатора з додаванням антибіотиків. Виділення клітин проводилось у середовищі 199 та гідролізаті лактальбуміну у співвідношенні 1:1. Тканину тимуса подрібнювали у великому гомогенізаторі Поттера, після чого клітини фільтрували через чотири шари капрону і відмивали триразовим центрифугуванням (90-g, 5 хв). Процент живих клітин завжди становив понад 95. Здійснювали дворазову імунізацію кроликів з двотижневим інтервалом. Під час кожної імунізації тварині вводили 10^9 тимоцитів людського зародка в об'ємі 4—5 мл середовища внутрішньо.

Перед тестуванням одержані сироватки абсорбували на тканині печінки людського зародка або мишей, а також відповідно на людських або мишачих еритроцитах. Сироватки проти тканини головного мозку та клітин тимуса людини абсорбували спочатку двічі на пулі відмитих еритроцитів донорів різних груп (на протязі 1 год), а потім — на гомогенаті печінки людського зародка (на протязі 1 год). Для адсорбції використовували рівні об'єми реагентів. Сироватки, взяті для тестування, розбавляли за час абсорбції в 1,3—2 рази. Після абсорбції сироватки висвітлювали центрифугуванням (20 хв, 8—9000 об/хв). Тестування абсорбованих сироваток провадили на тимоцитах мишей та людини з допомогою цитотоксичного тесту в мікромодифікації. Контролем були нормальні кролячі сироватки, абсорбовані відповідним чином. Комплемент абсорбувався на сухому агарі (80 мг агару на 1 мл розбавленого 1:3 комплекенту) на протязі 1 год при $+4^{\circ}\text{C}$, після чого просвітлювався центрифугуванням. Результати тестування одержаних нами імунних сироваток наведені в таблиці. Для порівняння з антилюдськими сироватками в таблиці також наведені результати тестування однієї з сироваток проти тимоцитів мишей.

Результати досліджень та їх обговорення

З аналізу даних, наведених у таблиці, видно по-перше, що сироваткам проти тимоцитів різною мірою властива цитотоксичність проти тимоцитів людського зародка. Так, сироватка A₁ після абсорбції на людських еритроцитах та тканині печінки людського зародка вбиває до 70% клітин тимуса до розведення 1:32, сироватка A₂ — всього до розведення 1:4 (загиблих клітин — 67%), а сироваткам A₃ і A₄ хоч і властива цитотоксичність до розведення 1:4, але вона досить низька (від 46 до 61% мертвих клітин). Водночас слід відзначити, що перехресних реакцій по суті не спостерігається,