

УДК 612.017.1.014.46:615.357.438—06:612.455

В. Ф. Чеботарьов, О. В. Антоненко, Т. К. Валуєва

ВПЛИВ АНТИТИМОЗИННОГО ІМУНОГЛОБУЛІНУ НА ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ

Гормони тимуса беруть активну участь у регуляції лімфоїдних клітин, що забезпечують розвиток клітинного імунітету [13]. Зниження активності цих гормонів має ослабити імунологічні реакції, які відторгають трансплантовані органи та спричиняють пошкодження тканин при розвитку гіперчутливості уповільненого типу. Особливі переваги мають засоби специфічного впливу на гормони тимуса. Одним з таких засобів може бути використання антитіл проти найбільш вивченого біологічно активного препарату — тимозину, який в своєму складі має один або кілька гормонів тимуса [9].

Перспективність застосування антитимозинних антитіл з метою впливу на функціональну активність імуокомпетентних лімфоїдних клітин була підтверджена Харді та ін. [6, 7]. Ці автори виявили уповільнене відторгнення первинного та вторинного трансплантату шкіри при введенні суцільної антитимозинної сироватки. Затс та ін. [14] показали гальмування відповіді Т-клітин на ФГА після введення антитимозинного імуноглобуліну у мишей, яким раніше вводили антилімфоцитарну сироватку.

Ми провадили порівняльне вивчення у неоперованих, адреналектомованих та тимектомованих морських свинок впливу антитимозинного імуноглобуліну на показники гіперчутливості уповільненого типу (ГУТ) *in vivo* та *in vitro*. Визначали також кількість Т-клітин, що утворюють специфічні розетки з антигеном, використаним для сенсibilізації-еритроцитами барана та загальну кількість Т-клітин у селезінці і лімфатичних вузлах.

Методика досліджень

Досліди проведені на 60 морських свинках. У кожну групу включали по п'ять тварин. Видалення тимуса та надниркових залоз і сенсibilізацію тварин здійснювали так само, як у раніше опублікованих дослідженнях [1, 2]. Антитимозинну сироватку одержували та тестували за Харді та ін. [7]. З суцільної сироватки кроликів виділяли фракцію антитимозинного імуноглобуліну (АТІГ) [4]. АТІГ вводили всім піддослідним тваринам щодня по 4 мг. Контрольні тварини у таких саме дозах одержували нормальний кролячий імуноглобулін.

Показниками ГУТ *in vivo* були об'єми інфільтратів через 24 год після внутрішкірного введення антигену (лізату еритроцитів барана). Для дослідження ГУТ *in vitro* використовували реакцію специфічного гальмування макрофагів [5]. Індекс цієї реакції обернено пропорційний інтенсивності ГУТ. Кількість Т-клітин, що специфічно реагують з антигеном, використаним для сенсibilізації тварин, визначали методом диференційованого розеткоутворення з еритроцитами барана [8]. Загальну кількість Т-клітин виявляли методом спонтанних розеток з кролячими еритроцитами [10]. В дослідгах використовували суспензії лімфоїдних клітин селезінки, що звільнялись від власних еритроцитів з допомогою осмотичного шоку. Суспензії лімфатичних вузлів одержували з суміші клітин підколієних, пахвинних та здухвинних залоз.

Результати досліджень

Наведені в табл. 1 та 2 дані характеризують стан клітинного імунітету у морських свинок на десятий день після сенсibilізації лізатом еритроцитів барана у повному адьюванті Фрейнда. В цей період у неоперованих тварин інтенсивність ГУТ досягала свого максимального розвитку. АТІГ відповідно зменшує в 1,8 рази величину інфільтратів шкіри у неоперованих тварин. Індекс розпластування макрофагів підвищується, що свідчить про пригнічення проявів ГУТ *in vitro*. Проте індекс розпластування статистично не відрізняється від показника групи тварин, які одержували ін'єкції НІГ ($p > 0,05$). Незважаючи на введення АТІГ, у неоперованих тварин через 10 діб після сенсibilізації зберігається вірогідне зменшення кількості розпластаних макрофагів в камері з специфічним антигеном в порівнянні з числом цих клітин у відсутності антигену (табл. 1). У адреналектомованих тварин пригнічуючий вплив АТІГ на показники ГУТ виявляється більш інтенсивно. В цьому випадку реакція шкіри збільшується у 2,6 рази ($p < 0,05$). На відміну від неоперованих, індекс розпластування макрофагів у тварин з видаленими наднирковими залозами статистично відрізняється від контрольної групи. Відсутність у адреналектомованих тварин вірогідного зменшення кількості розпластаних макрофагів під впливом специфічного антигену свідчить, що реакція ГУТ *in vitro* є практично негативною. У тимектомованих тварин виявляється протилежний ефект АТІГ на показники ГУТ. Інтенсивність цих показників підвищується. Стимулюючий ефект відзначається як *in vivo* так і *in vitro*, але тільки в останньому випадку збільшення напруженості ГУТ статистично вірогідне ($p < 0,05$).

Таблиця 1

Показники реакції гіперчутливості уповільненого типу *in vivo* та *in vitro* у морських свинок ($M \pm m$) на десятий день після сенсibilізації

Група тварин	Реакція шкіри, мм ³	Кількість розпластаних макрофагів (на 100 клітин)	Індекс розпластування
		з антигеном без антигену	
Неоперовані + НІГ	1120 ± 83,3	19,6 ± 2,0 39,1 ± 1,6	50,2 ± 2,4
Неоперовані + АТІГ	620 ± 44,1	31,8 ± 1,7 40,7 ± 2,0	68,4 ± 2,6
Адреналектомовані + НІГ	502 ± 56,4	20,9 ± 2,2 41,4 ± 1,8	50,3 ± 2,2
Адреналектомовані + АТІГ	193 ± 36,4	34,8 ± 2,2 42,8 ± 1,9	81,4 ± 2,2
Тимектомовані + НІГ	550 ± 61,3	34,3 ± 1,7 44,1 ± 2,2	77,8 ± 2,3
Тимектомовані + АТІГ	830 ± 78,2	24,5 ± 2,1 42,1 ± 1,8	58,3 ± 1,7

Зміни показників ГУТ у неоперованих тварин супроводжуються деяким зниженням вмісту специфічно детермінованих Т-клітин та загальної кількості Т-клітин (табл. 2). Але статистично вірогідне зменшення кількості Т-клітин при введенні АТІГ спостерігається тільки у адреналектомованих тварин. Кількість Т-клітин, що утворюють імунні розетки, знижується у селезінці в 10 разів, а у лімфатичних вузлах в 1,8 рази ($p < 0,05$). Кількість Т-клітин, що утворюють «спонтанні» розетки з ери-

Таблиця 2

Кількість Т-клітин, що специфічно реагують з еритроцитами барана
(на 10^5 лімфоїдних клітин) та загальна кількість Т-клітин (у млн)
на десятий день після сенсibiliзації

Група тварин	Загальна кількість Т-клітин		Т-клітини, що специфічно реагують з еритроцитами барана	
	селезінка	лімфатичні вузли	селезінка	лімфатичні вузли
Неоперовані+НІГ	$56 \pm 10,8$	$29 \pm 3,8$	$220 \pm 36,3$	$300 \pm 42,4$
Неоперовані+АТІГ	$43 \pm 4,1$	$19 \pm 2,9$	$129 \pm 22,2$	$213 \pm 23,1$
Адреналектомовані+НІГ	$190 \pm 22,3$	$38 \pm 4,8$	$100 \pm 19,8$	$100 \pm 8,4$
Адреналектомовані+АТІГ	$30 \pm 6,2$	$18 \pm 2,1$	$10 \pm 2,9$	$54 \pm 7,8$
Тимектомовані+НІГ	$76 \pm 8,2$	$20 \pm 2,9$	$15 \pm 1,7$	$72 \pm 6,8$
Тимектомовані+АТІГ	$112 \pm 18,7$	$32 \pm 3,4$	$36 \pm 3,9$	$84 \pm 8,1$

троцитами кроликів зменшується у селезінці в 6,8 рази, а у лімфатичних вузлах в 2,1 рази ($p < 0,05$). У тимектомованих морських свинок вміст Т-клітин збільшується. Статистично вірогідно змінюється показник, що характеризує наявність імунних розеток у селезінці. В цьому органі кількість Т-клітин, що специфічно реагують з еритроцитами барана, після введення АТІГ збільшується у 2,4 рази.

Обговорення результатів досліджень

Одержані нами дані виявляють підвищену чутливість адреналектомованих тварин до пригнічуючого впливу АТІГ на показники клітинного імунітету. Це узгоджується з даними, одержаними нами раніше [1], які свідчать про потенціюючий ефект адреналектомії на вплив тимозину. Дальші дослідження дозволили встановити, що подібний ефект адреналектомії залежить від зменшення вмісту глюкокортикоїдних гормонів. Наведені експериментальні матеріали вказують на особливий характер змін клітинного імунітету під впливом АТІГ у тимектомованих тварин. На підставі цих матеріалів важко остаточно визначити механізм впливу АТІГ на досліджувані нами показники імунітету. Можливо, що антитимозинний імуноглобулін впливає на синтез гормонів тимуса епітеліальними клітинами. На користь такого припущення можуть бути наведені дані про взаємодію антитимозинних антитіл з епітеліальними клітинами тимуса [12]. АТІГ може нейтралізувати циркулюючі гормони тимуса. Наявність гормону тимуса в крові була нещодавно доведена [3]. Крім впливу АТІГ на синтез тимозину та його активність у циркуляції, можна припустити безпосередню дію АТІГ на лімфоїдні клітини-мішені для тимозину. Ймовірність подібного ефекту підтверджується дослідженнями Харді та ін. [7], які показали, що до складу тимозину входить розчинний антиген. Цей антиген виявили також у поверхневій мембрані тимоцитів. Безпосередній вплив АТІГ на відповідні лімфоїдні клітини, можливо, є причиною змін реакцій клітинного імунітету, що були виявлені нами у тимектомованих тварин. На підставі наведених даних складається враження, що АТІГ спричиняє багатобічний ефект на лімфоїдну тканину, залежну від тимуса. Остаточний результат впливу АТІГ залежить від активності гуморальної функції тимуса та загального стану лімфоїдної тканини.

Взаємодія з поверхнею лімфоцитів, які тривалий час знаходились в оточенні, позбавленому гормонів тимуса, може призводити до пара-

доксального ефекту, який виявляється в посиленні імунологічної активності клітин. Подібні прояви стимулюючого впливу антитіл відомі в літературі [11].

Зараз вже одержано багато даних про те, що з початку другої половини життя гормони тимуса не потрапляють у циркуляцію, синтез їх припиняється [3]. В цих умовах АТІГ можливо також посилюватиме функцію Т-лімфоцитів, що є ефекторами клітинного імунітету.

Отже, АТІГ може виявитись цінним засобом стимулювання захисних сил організму у похилому віці.

Висновки

1. У морських свинок з інтактним тимусом АТІГ знижує прояви клітинного імунітету. Пригнічуючий вплив препарату збільшується у адреналектомованих тварин.

2. Через відносно тривалий час (18—20 тижнів) після пізньої тимектомії показники клітинного імунітету при введенні АТІГ підвищуються. Можливо, подібна реакція на АТІГ матиме місце в організмі з віковими змінами функції тимуса.

Література

1. Чеботарев В. Ф., Антоненко А. В., Валуєва Т. К. Влияние тимозина на некоторые показатели иммуногенеза у неоперированных и адреналектомированных морских свинок.— Журн. микробиол., 1975, № 4, с. 62—66.
2. Чеботарев В. Ф. Влияние поздней тимектомии и тимозина на количество антителообразующих клеток в селезенке и лимфатических узлах морских свинок.— Журн. микробиол., 1976, № 5, с. 126—128.
3. Bach J. F. e. a. Isolation, biochemical characteristics, and biological activity of a circulating thymic hormone in the mouse and in the human.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975, 249, p. 186—210.
4. Baumstark I. S. A preparative method for the separation of 7S gamma globulin from human plasma.— Arch. Biochem. Biophys., 1964, 108, p. 514—518.
5. Fauve R. U., Dekaris D. Macrophage spreading: inhibition in delayed hypersensitivity.— Science, 1968, 160, p. 795—796.
6. Hardy M. A. e. a. Effect of thymosin and an antithymosin serum on allograft survival in mice.— Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1968, 61, p. 875—882.
7. Hardy M. A. e. a. Effect of an antiserum to calf thymosin on lymphoid cells in vitro.— Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1969, 130, p. 214—219.
8. Haskill G. S. e. a. Classification of thymus—derived and marrow—derived lymphocytes by demonstration of their antigen—binding characteristics.— J. Exp. Med., 1972, 135, p. 1410—1415.
9. Hooper J. A. e. a. Purification and properties of bovine thymosin.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975, 249, p. 125—144.
10. Radaszkiewicz T., Denk H. Rosette formation of guinea pig lymphoid cells with rabbit erythrocytes—differences between thymocytes and peripheral blood lymphocytes.— Cell. Immunol., 1975, 16, № 2, p. 374—378.
11. Roitt I. M. Essential immunology. Oxford, London, Blackwell scientific publications. 1972. 213 p.
12. Teodorczyk J. A., Potworowski E. F., Sviculis A. Cellular localization and antigenic species specificity of thymic factors.— Nature, 1975, 258, N 5536, p. 617—619.
13. White A. Nature and biological activities of thymus hormones: prospect for the future.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975, 249, p. 523—530.
14. Zats M. M. e. a. The effect of antithymosin globulin on the recovery of T-cells in ATS-treated mice.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975, 249, p. 499—504.

Лабораторія імунохімії гормонів
Київського інституту ендокринології
та обміну речовин

Надійшла до редакції
9.III 1977 р.