

УДК 612.017

С. В. Комісаренко, Н. П. Карлова

ВИКОРИСТАННЯ РЕАКЦІЇ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИ ХАЗЯЇНА» ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ІМУНОДЕПРЕСИВНОГО ВПЛИВУ МЕТИЛЕНДИФОСФОНОВОЇ КИСЛОТИ

Реакція «трансплантат проти хазяїна» є реакцією імунокомпетентних клітин донора проти клітин хазяїна, які відрізняються за антигенами гістосумісності, в тих випадках, коли імунна відповідь хазяїна проти трансплантата пригнічена або неможлива (наприклад, під дією імунодепресорів, опромінення, з «генетичних» причин). Широкого застосування набула модель реакції «трансплантат проти хазяїна» (РТПХ), коли використовують батьківські штами (донори) та гібриди першого покоління — F_1 (реципієнти). В цьому випадку імунна система F_1 не відрізняє як чужорідні клітини батьківських штамів, тоді як самі клітини F_1 служать мішенню для лімфоцитів донорів [5].

Раніше нами було встановлено, що аналог пірофосфату — метилендіфосфонові кислота (МДФК) пригнічує утворення антитіл у тварин [1], гальмує реакції гіперчутливості сповільненого й негайного типів [2]. Біологічний вплив МДФК можна пояснити її дією як інгібітора ряду важливих біохімічних реакцій [3]. Ми застосовували РТПХ для вивчення імунодепресивного впливу МДФК.

Методика досліджень

В дослід брали мишей F_1 — гібридів (BALB/c × C57Bl) віком 7 днів і дорослих мишей материнської лінії BALB/c та батьківської — C57Bl. Для кожної дослідної групи в день народження мишей-гібридів починали готувати донорів. Мишей-гібридів поділили на шість груп: одна інтактна, одна контрольна та чотири дослідні. Кожній групі тварин за винятком інтактною на сьомий день життя у черевну порожнину вводили $1,2 \cdot 10^7$ живих клітин селезінки відповідного схеми досліду донора у 0,1 мл середовища 199. Для більшої статистичної вірогідності мишат однієї матері використовували в різних експериментальних групах. Схема підготовки донорів та введення відповідних клітин наведена на рисунку. Група I — гібридам цієї групи вводили сингенні клітини (контрольна група); II — донорами для гібридів служили дорослі миші лінії BALB/c — тобто РТПХ у чистому вигляді; III — донорами були дорослі миші лінії BALB/c, яким у перший, другий, третій дні (рахуючи з дня народження мишей F_1 , для яких готували цих донорів) вводили МДФК; IV — донори клітин селезінки — дорослі миші BALB/c, яким на другий день життя гібридів у черевну порожнину вводили суспензію мертвих клітин селезінки мишей батьківської лінії C57Bl в концентрації $2 \cdot 10^6$ клітин в 0,2 мл фізіологічного розчину для підсилення РТПХ; V — ця група аналогічна групі IV, але відповідним донорам, як і в групі III заздалегідь вводили МДФК.

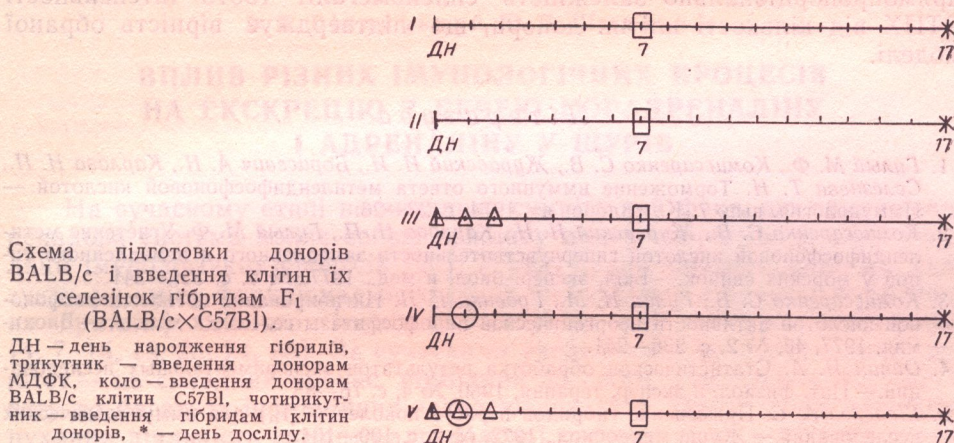
МДФК вводили мишам BALB/c груп III та V залежно від схеми, триразово, підшкірно, в дозі 40 мг/г. Через 10 днів після введення донорських клітин (тобто на 17 день життя гібридів) мишей F_1 забивали, визначали вагу тіла та селезінки в мг. Результати дослідів обробляли статистично [4] з одержанням вірогідних рядів.

Результати досліджень та їх обговорення

При РТПХ найперший та постійний симптом — спленомегалія, інтенсивність якої залежить від сили реакції імунокомпетентних клітин донора проти хазяїна й корелює з їх кількістю. Цей фактор у вигляді

індексу селезінки за Симонсеном [9, 10] був основним критерієм оцінки результатів впливу МДФК. Індекс селезінки є антилогарифм різниці логарифмів середньої ваги селезінки в мг на 10 г ваги мишей у групах, які порівнювалися. РПТХ вважається виявленою, коли індекс більше 1,3 [7].

Результати дослідів наведені в таблиці, з якої видно, що введення сингенних клітин гібридами (група I) не впливає на відносну вагу селезінки й практично відповідає спостережуваним показникам у інтакт-



них тварин. Введення F₁ донорських клітин BALB/c (група II) приводить до розвитку РПТХ з індексом селезінки 1,4. Слід відзначити, що РПТХ не була інтенсивна, мабуть, внаслідок того, що донорські клітини вводили досить пізно (на сьомий день після народження) та на короткий період (10 днів), що було пов'язано з особливостями підготовки донорів. Посилення РПТХ спостерігали у групі IV завдяки попередній імунізації донорів мертвими клітинами іншої батьківської лінії — індекс селезінки 1,7. Введення МДФК тваринам, що служили донорами для груп III та V, спричиняє пригнічення властивості донорських клітин викликати РПТХ у гібридів — порівнювані групи III—I, V—I, III—II, V—IV. Як і слід було чекати, імунодепресивний вплив менш виражений у групі V, яку заздалегідь імунізували клітинами C57B1.

Реакція «трансплантат проти хазяїна» та вплив на неї метилендифосфонові кислоти

Порівнювані групи	$M_1 \pm m$	$M_2 \pm m$	$\frac{M_1}{M_2} \cdot 100 \%$	$\lg M_1$	$\lg M_2$	$d \lg$	Індекс селезінки (antilg d)
I—інтакт.	49 ± 2	51 ± 1	96	1,6902	1,7076	-0,0174	0,149
II—I	69 ± 6	49 ± 2	140	1,8388	1,6902	+0,1486	1,408
IV—I	85 ± 10	49 ± 2	174	1,9294	1,6902	+0,2392	1,735
III—I	48 ± 2	49 ± 2	98	1,6812	1,6902	-0,0090	0,079
V—I	54 ± 2	49 ± 2	110	1,7324	1,6902	+0,0422	0,264
III—II	48 ± 2	69 ± 6	69	1,6812	1,8388	-0,1576	1,437
V—IV	54 ± 2	85 ± 10	63	1,7324	1,9294	-0,1970	1,574

Примітка. Кількість тварин у кожній групі: I—12, II—17, III—14, IV—15, V—16, VI—15. $M_{1,2}$ —середні значення $\frac{\text{вага селезінки, в мг}}{10 \text{ г ваги миші}}$; $\lg M_{1,2}$ —логарифми значень M_1 і M_2 ; $d \lg$ —різниця логарифмів; індекс селезінки—антилогарифм різниці.

Згідно з сучасними даними, при розвитку РТПХ найвірогіднішою первинною стадією є взаємодія тимусзалежних лімфоїдних клітин донора та хазяїна [6, 8, 11]. Можна припустити, що МДФК пригнічує Т-залежні клітини, що й веде до зниження інтенсивності реакції.

Ми перевіряли також залежність розвитку у F_1 спленомегалії від кількості введених живих клітин селезінки донора. Для цього мишам-гібридам у черевну порожнину одноразово вводили 10^6 , $7 \cdot 10^6$, або $15 \cdot 10^6$ клітин донора в 0,1 мл середовища 199. Одержані результати показали прямопропорційно залежність спленомегалії тобто інтенсивності РТПХ від кількості клітин донора, що підтверджує вірність обраної моделі.

Л і т е р а т у р а

1. Гулый М. Ф., Комиссаренко С. В., Журавский Н. И., Борисевич А. Н., Карлова Н. П., Селезнева Т. Н. Торможение иммунного ответа метилendifосфоновой кислотой. — Иммунология, вып. 7. К., «Здоров'я», 1974, с. 23—26.
2. Комиссаренко С. В., Журавский Н. И., Карлова Н. П., Гулый М. Ф. Угнетение метилendifосфоновой кислотой гиперчувствительности замедленного и немедленного типов у морских свинок. — Бюл. exper. биол. и мед., 1977, № 9, с. 339—341.
3. Комиссаренко С. В., Гулая Н. М., Губенко Е. П. Ингибирование метилendifосфоновой кислотой активности неорганической пирофосфатазы селезенки мышей. — Биохимия, 1977, 42, № 2, с. 238—241.
4. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований. — Пат. физиол. и exper. терапия, 1960, № 4, с. 76—85.
5. Шевелев А. С. Применение гибридов первого поколения (F_1) для иммунологических исследований. — Журн. микробиол., 1972, № 2, с. 100—104.
6. Elie R., Zapp W. S. Apparent T cell Function of Bone Marrow Cells from Mice Experiencing a Graft — Versus — Host Reaction. — Cell. Immunol., 1976, 21, p. 185—191.
7. Michie D. The Biometrics of the Spleen Weight Assay. Handbook of Experimental Immunology, v. 2, Oxford Press, 1973, 30.1—30.13.
8. Nouza K. The theory, practice and treatment of graft — versus — host reaction. — Rev. Franc. etud. Clin. biol., 1968, 13, p. 747—762.
9. Simonsen M., Jensen E. Biological problems of grafting. Univ. de Liege, 1959. 265 p.
10. Simonsen M. Graft — versus — host reactions. Their natural history and applicability as tools of reasearch. — Progr. Allergy, 1962, 6, p. 349—467.
11. Tyan M. L. Modification of Graft — Versus — Host Disease with Con A and Preimmunization. — Proc. Soc. Exp. Biol., 1975, 150, p. 628—629.

Лабораторія імунохімії Інституту біохімії
АН УРСР, Київ

Надійшла до редакції
13.IV 1977 р.

S. V. Komissarenko, N. P. Karlova

USE OF THE «GRAFT-VERSUS-HOST REACTION» TO STUDY METHYLENE DIPHOSPHONIC ACID IMMUNOSUPPRESSIVE ACTION

Summary

The graft-versus-host reaction was used to study the methylene diphosphonic acid immunosuppressive activity. Methylene diphosphonic acid thrice injected in a dose of 40 $\mu\text{g/g}$ of body weight to BALB/c mice, served as a source of donor spleen cells, inhibited the graft-versus-host reaction in F_1 (BALB/c $\times$ C57Bl) after transplantation of $1.2 \cdot 10^7$ living BALB/c spleen cells.

The A. V. Palladin Institute of Biochemistry,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev