

Література

1. Антоненко В. Т., Тимченко А. С. Імунодепресивна та імуностимулююча ефективність бичачого антилімфоцитарного гамма-глобуліну для людини.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1976, 22, № 5, с. 651—655.
2. Вихман А. А., Карасик О. А., Софронов Б. Н. Чувствительность лимфоидных клеток к действию антилимфоцитарной сыворотки на разных этапах иммуногенеза.— Бюл. exper. биол., 1971, № 5, с. 77—80.
3. Гюллинг Э. В., Мельников О. Ф. Небные миндалины — источник инфекции или иммунитета? Киев, «Здоров'я», 1976. 60 с.
4. Boxel J., Stobo J., Paul W., Green J. Antibody-dependent lymphoid cell-mediated cytotoxicity: requirement for thymus-derived lymphocytes.— Science, 1972, 175, N. 4018, p. 194—196.
5. Nelson D., Bundy B., West T., Strober W. The nature of the effector cells mediating mitogen — induced cellular cytotoxicity and antibody — dependent cellular cytotoxicity.— Cell. Immunol., 1976, 23, N. 1, p. 89—98.
6. Perlmann P., Perlmann H., Wasserman J., Packalen T. Lysis of chicken erythrocytes sensitized with PPD by lymphoid cells from guinea pigs immunized with tubercle Bacilli.— Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol., 1970, 38, N. 2, p. 204—216.
7. Tsutsui J., Everett N. Specific versus nonspecific target cell destruction by T-lymphocytes sensitized in vitro.— Cell. Immunol., 1974, 10, N. 3, p. 359—370.
8. Willumsen J., Heron I. Cell mediated lympholysis in man. A case of «non relevant» killing of third party persons.— Tis. Antigens, 1974, 4, N. 2, p. 172—177.

Надійшла до редакції
11.III 1977 р.

Лабораторія фізіології і патофізіології
Київського інституту отоларингології

УДК 616—097.612.017—11/12

В. М. Федорич

ВИВЧЕННЯ РЕАКЦІЇ ЛІМФОЇДНОЇ СИСТЕМИ НА АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЮ ШКІРИ В УМОВАХ ЗАСТОСУВАННЯ АЛС ПРОТИ НОРМАЛЬНИХ І ПАСИВНО СЕНСИБІЛІЗОВАНИХ ЛІМФОЦИТІВ

Останнім часом посилено ведуться пошуки методів одержання антилімфоцитарних сироваток (АЛС) з метою посилення їх імунодепресивних властивостей, ослаблення токсичності та імуногенності шляхом різноманітних методів очищення, а також надання більш специфічних властивостей щодо трансплантованого органа чи тканини.

Для одержання вузькоспецифічних АЛС різними авторами запропоновано як антигенний матеріал використовувати лімфоцити, сенсibilізовані трансплантаційними антигенами *in vivo*, тобто лімфоцити, взяті у реципієнта в період відторгнення трансплантата [1, 2]. Такі сироватки мають більш виразний пролонгуючий ефект по відношенню до трансплантата, але складність одержання антигенного матеріалу обмежує застосування такого роду АЛС у клініці.

Ефект імунологічного посилення при імунізації тварин комплексом водорозчинних антигенів у сполучі з антисироваткою в надлишку антигену відомий давно і добре вивчений [2]. Цей принцип був застосований пізніше [3] при одержанні АЛС імунізації кроликів, мишачими тимоцитами, аглютинованими кінською протимишачою АЛС. Такий метод імунізації клітинами, навантаженими специфічними антитілами, дістав назву методу посиленої імунологічної сенсibilізації. Одержана АЛС мала слабку цитотоксичність *in vitro*, низький титр антитіл в реакції гемаглютинації і тромбocyтоаглютинації, але порівняно сильну імунодепресивну активність (до 30 днів виживання трансплантата в порівнянні з 12—13,5 днями у контролі).

Використовуючи як імуноген людські лімфоцити периферичної крові, пасивно сенсibilізовані кролячою АЛС, автори одержали кролячу АЛС, з слабкою цитотоксичністю, низьким титром антитіл в реакції гемаглютинації і тромбocyтоаглютинації. Тестування сироватки на життєздатність трансплантатів не проводилось.

Нами була одержана кроляча протишуряча АЛС методом посиленої імунологічної сенсibilізації. На моделі алотрансплантації шкіри порівняно із звичайною АЛС була вивчена її імунодепресивна активність і ступінь впливу на лімфоїдні тканини організму.

Методика досліджень

АЛС проти нормальних лімфоцитів (АЛС₁), одержували методом імунізації кроликів живими клітинами мезентеріальних лімфатичних вузлів шурів за схемою триразового введення (з проміжком у два тижні між введеннями), із застосуванням стимулятора Фрейнда на перше введення (введено 1×10^9 клітин). При одержанні АЛС методом посиленої сенсибілізації (АЛС₂) клітини лімфатичних вузлів аглютинували в розведень АЛС (1 : 32), двічі відмивали фізіологічним розчином та імунізували кроликів за тією ж схемою і в тій же кількості. Цитотоксичний тест за 50% лімфоцитів для АЛС₁ був 1 : 64, а для АЛС₂ — 1 : 4.

Досліди проведені на 95 лабораторних щурах (вагою 120—140 г). Тварин поділили на три дослідні групи по 30 у кожній і одну контрольну. Всім дослідним тваринам була проведена алотрансплантація шкіри ($2 \times 2,5$ см) від одного донора для кожної групи. На другу, п'яту, дев'яту (сьома і десята для першої групи) і 12 добу після трансплантації по п'ять тварин з кожної дослідної групи були декапітовані. В другій і третій дослідних групах перед трансплантацією та на другу, п'яту, дев'яту і 12 добу після неї тваринам вводили підшкірно по 1 мл відповідної АЛС. Ті тварини, що залишились у кожній дослідній групі, були використані як контроль на тривалість виживання трансплантата.

У дослідних тварин визначали кількість лейкоцитів в 1 мм^3 крові, кількість ядерних клітин в 1 мг сирової ваги селезінки, мезентеріальних лімфатичних вузлів, кісткового мозку та зарудної залози. Результати досліджень статистично оброблені і порівнювались як між собою, так і з групою нормальних тварин. Результати досліджень наведені на рис. 1, 2, 3.

Результати досліджень

В першій групі тварин виживання алотрансплантатів шкіри становило в середньому сім діб. Через дві доби після трансплантації реакція лімфоїдної системи виражалась у достовірних збільшеннях кількості лейкоцитів крові, клітин у мезентеріальному лімфатичному вузлі, і, особливо, в кістковому мозку, де кількість клітин збільшилась у порівнянні з нормальним рівнем у два рази. Як відомо, на п'яту добу інтенсивно розвивається реакція відторгнення. В порівнянні з другою добою відбулося зменшення вмісту клітин як у крові, так і в органах, що вказує на їх мобілізацію в місці відторгнення. На сьому добу, коли трансплантат повністю був відторгнутий, виявлено збільшення як у порівнян-

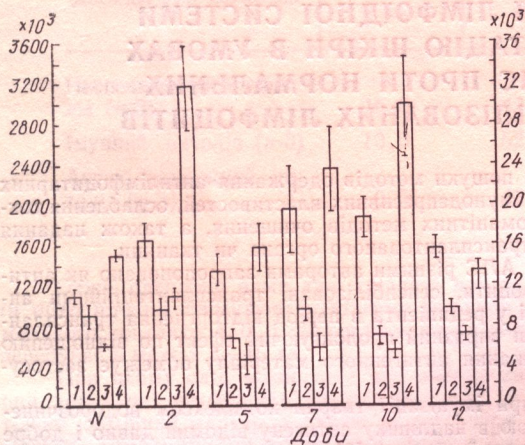


Рис. 1. Трансплантація шкіри.

По вертикалі зліва — кількість клітин в 1 мг органа, справа — кількість лейкоцитів в 1 мм^3 крові. По горизонталі — доби досліджень, 1 — лейкоцити крові, 2 — селезінка, 3 — лімфатичний вузол, 4 — кістковий мозок.

ні з нормою, так і з п'ятою добою, кількості лейкоцитів у крові і клітин кісткового мозку, достовірне збільшення відзначено і на десятю добу. До цього строку достовірно зменшувалась кількість клітин селезінки. На дванадцяту добу всі досліджувані показники перебували в межах норми.

Як відомо, антилімфоцитарні сироватки є імунодепресорами і введення їх супроводжується спустошенням лімфоїдної системи. В наших дослідах (рис. 2) об'єднання трансплантації і введення АЛС₁ призводило до достовірного зменшення вмісту лейкоцитів крові і клітин лімфатичного вузла і тимуса. На п'яту добу кількість лейкоцитів крові збільшилась, а клітин у досліджуваних лімфатичних органах зменшилась (у селезінці і тимусі в два-три рази). На дев'яту добу з розвитком адаптації до АЛС починає збільшуватися кількість клітин в лімфоїдних органах, деякі з них на дванадцяту добу мали тенденцію до нормалізації, хоча кількість клітин в кістковому мозку ще залишалась

низькою. На фоні застосування АЛС₁ виживання трансплантатів перебувало в межах 20—25 діб.

Застосування АЛС₂, одержаної методом посиленої імунологічної сенсibilізації на фоні алотрансплантації шкіри (рис. 3) на другу добу привело до збільшення кількості лейкоцитів крові та клітин тимуса, в порівнянні з тим же строком після трансплантації (рис. 1), в два рази, а клітин кісткового мозку — в три рази. Через п'ять діб достовірно збільшеною була кількість лейкоцитів крові, клітин лімфатичного вузла і зменшена кіль-

Рис. 2. Трансплантація шкіри та введення АЛС₁.

б — загрудинна залоза. Інші умовні позначення див. рис. 1.

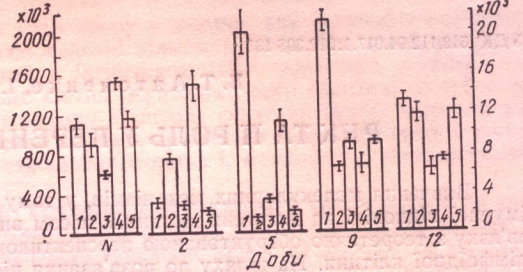
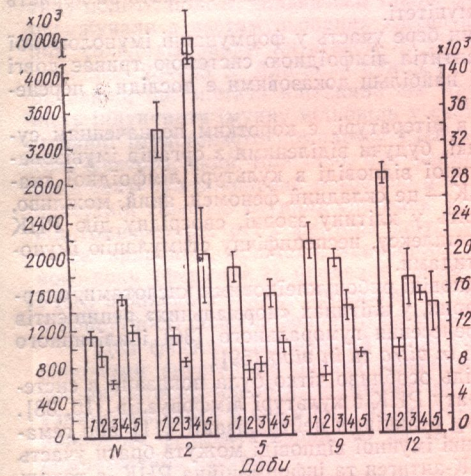


Рис. 3. Трансплантація шкіри та введення АЛС₂.

Умовні позначення див. рис. 2.

кість клітин у тимусі. В наступні два строки кількість клітин проявляла тенденцію до збільшення. Строк виживання трансплантатів шкіри становив 18—20 діб.

Отже, в результаті імунізації кроликів мезентеріальними лімфоцитами шурів, пасивно сенсibilізованих АЛС, одержана антилімфоцитарна сироватка, що мала виражені імунодепресивні властивості (18—20 діб виживання трансплантатів шкіри після п'ятиразового, по 1 мл через три доби, введення цієї сироватки). Завдяки низькій цитотоксичності (цитотоксичний тест становив 1:4), така сироватка на фоні трансплантації не опустошувала лімфоїдну тканину, а навпаки, дещо стимулювала клітинний склад здебільшого на початку введення.

Література

1. Антоненко Л. І. Порівняльне вивчення впливу АЛС проти нормальних і сенсibilізованих лімфоцитів на виживання алотрансплантатів шкіри шурів.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1974, 20, № 5, с. 590—596.
2. Terres G., Morrison S. Enhanced immunologic sensitization of mice by the simultaneous injection of antigen and specific antiserum. III. The role of antigen in controlling the immune response elicited with immune complexes.— J. Immunol., 1967, 98, N 3, p. 584—592.
3. Zola H., Tomas D., Mosedale B. The use of complexes of lymphocyte antigens with antibody of immunogens for the preparation of antilymphocytic sera.— Experientia, 1972, 28, N 2, p. 192—193.

Відділ гіпоксичних станів
Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР

Надійшла до редакції
12.V 1976 р.