

УДК 612.67.017.12:612.112.94

Г. М. Бутенко, Л. Ф. Андрианова, Т. Л. Ехнева

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ВОССТАНОВЛЕНИЮ СНИЖЕННОГО ПРИ СТАРЕНИИ ИММУННОГО ОТВЕТА

Старение сопровождается выраженными изменениями активности системы иммунитета, одно из проявлений которых состоит в резком снижении гуморального и клеточного иммунного ответа [8]. Последствием этих изменений является возникновение ряда заболеваний, характерных для старого возраста, среди которых повышенная чувствительность к инфекционным агентам, активация вирусных процессов и склонность к возникновению злокачественных опухолей занимают значительное место [11]. Поэтому восстановление иммунной реактивности в старости может иметь большое значение для предупреждения и лечения ряда заболеваний, а, в конечном счете, оказать влияние на продолжительность жизни. При анализе механизмов снижения иммунного ответа в старости выявлено, что в значительной степени, хотя и не полностью, оно является результатом возрастной инволюции тимуса и изменения функции тимус-зависимых (Т) лимфоцитов [10]. В связи с этим для устранения возникшего дефекта иммунитета логично было применение препаратов из тимуса, способных замещать его функции, а также трансплантация этого органа [3, 7]. Кроме того, ведется поиск химических соединений, воздействующих на различные звенья системы иммунитета, с целью восстановления нарушенной функции. Для этого были применены 2-меркаптоэтанол, натуральные и синтетические полинуклеотиды [4, 8, 9], поли-4-винилипиридин [2], с помощью которых удалось достичь определенной степени восстановления иммунного ответа.

В настоящей работе нами был продолжен поиск средств и воздействий, оказывающих влияние на величину иммунного ответа в старости.

Методика исследований

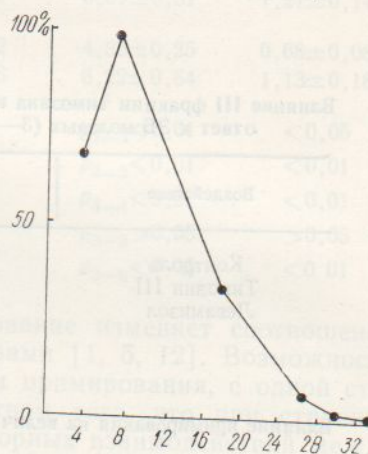
Опыты ставили на мышах линии СВА из питомника АМН СССР. Животных получали в возрасте 2—3 мес и затем содержали в условиях вивария института до достижения ими старости. В настоящем эксперименте использованы животные в возрасте от 3 до 34 месяцев. Уровень гуморального иммунного ответа определяли по количеству прямых бляшкообразующих клеток (ПБОК) в селезенке после внутрибрюшинного введения $1 \cdot 10^8$ эритроцитов барана (ЭБ), на четвертый день после иммунизации. Уровень клеточного иммунитета определяли по величине реакции трансплантат-против-хозяина (РТПХ) при введении $6 \cdot 10^7$ клеток селезенки мышей СВА разного возраста трехдневному гибриду (СВА $\times$ C57Bl)F₁. Регистрировали вес тимуса, печени и селезенки реципиента, и по отношению к весу тела рассчитывали соответствующий индекс. В качестве средств воздействия были использованы: 1) левамизол (декарис, производства фирмы «Гедон Рихтер», ВНР); 2) калиевая соль полиадениловой кислоты (ПАК), фирмы «Реанал», ВНР; 3) полный адъювант Фрейнда (фирма «Дифко», США) — ПАФ; 4) тимозин (третья фракция), получен в лаборатории иммунохимии гормонов, Киевского института эндокринологии и обмена веществ; 5) для усиления иммунного ответа была использована процедура примирования, которая состояла в предварительном, за три дня до иммунизации, введении того же антигена.

Как было показано ранее, примирование у молодых животных вызывает значительное подавление иммунного ответа, а у старых, наоборот, его стимуляцию, возможно, за счет ослабления при старении супрессорной функции T -клеток [1]. Для РТПХ применяли аналогичную примированию процедуру активации посредством введения донору CBA клеток селезенки взрослых гибридов $(CBA \times C57Bl)F_1$ в дозе $2 \cdot 10^7$.

Результаты исследований

Изучение динамики гуморального иммунного ответа на тимус-зависимый антиген — эритроциты барана — у мышей линии CBA разного возраста показало, что его величина достигает максимума в 4–6 мес, а затем неуклонно снижается, составляя в предельно старом возрасте (33–34 мес) лишь около 0,7% от максимального уровня (см. рисунок).

При исследовании влияния различных стимуляторов иммунитета на первичный и вторичный (повторное введение той же дозы антигена



Изменение первичного иммунного ответа с возрастом у мышей CBA при иммунизации $1 \cdot 10^8$ ЭБ.

Каждая точка среднее не менее 15 опытов. Уровень максимального ответа принят за 100%. По вертикали — ПБОК / селезенку в процентах. По горизонтали — возраст в месяцах.

через 1 мес после первого) гуморальный иммунный ответ к ЭБ было установлено (табл. 1 и 2), что введение полного адьюванта Фрейнда вызвало увеличение уровня вторичного иммунного ответа у молодых животных и не повлияло на старых. Введение ПАК несколько повысило первичный ответ старых животных, не оказав влияния на молодых. Третья фракция тимозина не повлияла существенным образом на величину гуморального иммунного ответа интактных молодых и старых мышей. Левамизол привел к некоторому увеличению ответа у старых.

Следующим исследуемым воздействием было примирование антигеном за три дня до основной иммунизации (табл. 3). Обращает на себя внимание различная реакция на примирование у молодых и старых животных. У молодых она ведет к значительному уменьшению числа ПБОК, у старых, наоборот, к его увеличению.

Интересно было проследить, как под влиянием указанных воздействий будет меняться выраженность клеточного иммунитета. В табл. 4 приведены показатели изменения реакции трансплантат-против-хозяина под влиянием некоторых из них. Как видно из приведенных в таблице данных, способность клеток старой селезенки вызывать РТПХ значительно снижена, по сравнению с наблюдаемой у молодых животных, но продолжает оставаться достаточно заметной. Предварительная обработка старых животных — доноров клеток селезенки — ПАК не дала существенного изменения РТПХ. Введение левамизола привело к существенному увеличению реакции. Еще большего эффекта удалось добиться предварительной стимуляцией донора клетками взрослых $(CBA \times C57Bl)F_1$ гибридов.

Таблица 1
Влияние введения ПАК и ПАФ на первичный и вторичный иммунный ответ молодых (4 мес) и старых (33—34 мес) мышей к ЭБ в дозе $1 \cdot 10^8$ ПБОК в селезенке 10^{-3} ($M \pm m$)

Воздействие	Молодые		Старые	
	Первичный ответ	Вторичный ответ	Первичный ответ	Вторичный ответ
Контроль	$102,0 \pm 10,7$	$41,0 \pm 12,9$	$0,4 \pm 0,1$	$9,5 \pm 4,1$
ПАК	$94,2 \pm 11,7$	$41,9 \pm 4,9$	$1,5 \pm 0,4^*$	$8,4 \pm 3,9$
ПАФ	$97,6 \pm 6,1$	$70,2 \pm 5,9^*$	$0,2 \pm 0,1$	$3,7 \pm 1,6$

Таблица 2
Влияние III фракции тимозина и левамизола на первичный иммунологический ответ к ЭБ молодых (3—4 мес) и старых (25—26 мес) мышей.

Воздействие	Молодые	Старые
Контроль	$16,6 \pm 4,4$	$1,41 \pm 0,50$
Тимозин III	$11,5 \pm 4,0$	$1,62 \pm 0,34$
Левамизол	$24,2 \pm 2,8$	$5,00 \pm 1,44^*$

Таблица 3
Влияние примирования на величину иммунного ответа к ЭБ у мышей разного возраста

Воздействие	4—6 мес	17—19 мес	27—29 мес
Контроль	$63,4 \pm 8,6$	$26,4 \pm 10,5$	$6,0 \pm 3,4$
Примирование	$25,6 \pm 3,2$	$35,9 \pm 11,2$	$35,7 \pm 5,9$
<i>p</i>	$< 0,01$	$> 0,05$	$< 0,01$

*— $p < 0,05$.

Обсуждение результатов исследований

Приведенные данные свидетельствуют о глубине нарушений иммунного ответа при старении, которые с трудом поддаются влиянию на них стимулирующих средств. Так, применение полного адьюванта Фрейнда, хорошо известного стимулятора иммунологических реакций, не дало у старых животных стимулирующего влияния ни на первичный, ни на вторичный ответ. Не оказало влияния на величину гуморального иммунного ответа также предварительное введение препаратов тимуса. Следует обратить внимание на то, что некоторые вещества по-разному влияют на различные типы иммунных реакций. Так, ПАК, немного стимулируя гуморальный ответ, оказался совершенно неэффективным в реакциях клеточного типа. Наоборот, левамизол, будучи хорошим стимулятором клеточной реакции, оказывает лишь небольшое усиливающее действие на гуморальный иммунитет.

Интересен значительный стимулирующий эффект как на клеточный, так и на гуморальный иммунный ответ двукратного последовательного, с интервалом в три дня введения антигена (примирование).

Таблица 4

Влияние ПАК, левамизола и примирования на относительный вес (в % к весу тела) тимуса, печени и селезенки трехдневного гибрида (СВА×С 57 В1)F₁ при РТПХ клеток селезенки (6·10⁷) мышей СВА разного возраста ($M \pm m$)

Объект исследования	Тимус	Печень	Селезенка
1. Интактные мышата	0,63±0,02	2,32±0,17	0,36±0,02
2. РТПХ, доноры клеток 2,5 мес	0,63±0,11	6,61±0,76	1,38±0,29
3. РТПХ, доноры клеток 26 мес	0,56±0,04	4,50±0,39	0,55±0,07
4. РТПХ, доноры 26 мес, получали левамизол	0,54±0,10	6,01±0,51	1,21±0,14
5. РТПХ, доноры 26 мес, получали ПАК	0,68±0,02	4,35±0,25	0,68±0,08
6. РТПХ, доноры 26 мес, примированы клетками (СВА×С 57 В1)F ₁	0,34±0,06	6,22±0,64	1,13±0,18
		$p_{1-3} < 0,01$	$< 0,05$
		$p_{2-3} < 0,01$	$< 0,01$
		$p_{3-4} < 0,01$	$< 0,01$
		$p_{3-5} > 0,05$	$> 0,05$
		$p_{3-6} < 0,05$	$< 0,01$

В ряде работ указывалось, что примирование изменяет соотношение между Т-клетками-хелперами с супрессорами [1, 5, 12]. Возможность активации иммунной реакции посредством примирования, с одной стороны, является еще одним доказательством того, что при старении главную роль играют нарушения регуляторных взаимодействий между иммунокомпетентными клетками; с другой — указывает на возможность избирательной стимуляции иммунной реакции, что может быть использовано в практических целях при необходимости повышения иммунного ответа против определенного, специфического антигена.

Кроме того, приведенные результаты указывают на принципиальную возможность усиления иммунного ответа в старости с помощью неспецифических стимуляторов и делают настоятельную необходимость поиска более универсальных и эффективных средств, схем и процедур их введения.

Литература

1. Андрианова Л. Ф. Возрастные особенности супрессорной активности примированных антигеном клеток селезенки мышей линии СВА и регуляция иммунного ответа в старости. — Онтогенез, 1978, 9, № 4, с. 411—415.
2. Хаитов Р. Н., Кожина Е. В., Батырбеков А. А. Повышение иммунного ответа у старых мышей с иммунологической недостаточностью. — Пат. физиол., 1975, № 4, с. 80—81.
3. Bliznakov E. G., Wan Y.-P., Chang D., Folkers K. Partial reactivation of impaired immune competence in aged mice by synthetic thymus factors. — Biochem. Biophys. Res. Commun., 1978, 80, N 3, p. 631—636.
4. Braun W. e. a. Synthetic polynucleotides as restorers of normal antibody-forming capacities in aged mice. — RES, 1970, 7, N 3, p. 418—424.
5. Eardley D. D., Gershon R. K. Feedback induction of suppressor T-cell activity. — J. Exp. Med., 1975, 142, p. 524—529.
6. Hijmans W., Hollander C. F. The pathogenic role of age-related immune dysfunction. — In: Immunology and aging. N. Y. — London: Plenum Medical Book Co., 1977, p. 23—34.
7. Hirokawa K., Albright J. W., Makinodan T. Restoration of impaired immune functions in aging animals. — Clin. Immunol., Immunopathol., 1976, 5, N 3, p. 371—376.
8. Kent S. Can cellular therapy rejuvenate the aged? — Geriatrics, 1977, 32, N 8, p. 92—99.

9. Makinodan T., Deitchman J. W. e. a. Restoration of the declining immune functions of aging mice.—Proc. 10th Int. Congr. Geront. Jerusalem, 1975, 2, p. 23.
10. Makinodan T., Good R. A., Kay M. M. B. Cellular basis of immunosenescence.—In: Immunology and aging. N. Y.—London: Plenum Medical Book Co., 1977, p. 9—22.
11. McKay I. R., Whittingham S. F., Mathews J. D. The immunoepidemiology of aging.—In: Immunology and aging. N. Y.—London: Plenum Medical Book Co., 1977, p. 35—49.
12. Tada T., Taniguchi M., Takemori T. Properties of primed suppressor T-cells and their products.—Transplant. Rev., 1975, 26, p. 106—129.

Институт геронтологии
АНН СССР, Киев

Поступила в редакцию
16.I 1979 г.

G. M. Butenko, L. F. Andrianova, T. L. Ekhneva

EXPERIMENTAL APPROACHES TO RESTORATION OF THE IMMUNE RESPONSE DECLINE WITH AGE

Summary

Stimulating influences of thymosin (3rd fraction), levamisole, potassium polyadenylate, complete Freund adjuvant (CFA) and antigen priming were studied in the experiments on CBA mice of different ages. Antigen priming 3 days prior the immunization produced the greatest effects both in the plaque-forming response to SRBC and GvH reaction. Levamisole was found to stimulate markedly the GvH reaction and slightly the response to SRBC. Potassium polyadenylate had a low stimulating effect in the humoral response to SRBC and was ineffective in GvH. No influences either in cellular or humoral immune responses could be observed with thymosin and CFA.

Institute of Gerontology
Academy of Medical Sciences, USSR, Kiev