

УДК 612.017.1:615:276

Е. Ф. Чернушенко, А. А. Чумак

ВЛИЯНИЕ ФИТОГЕМАГГЛЮТИНИНА НА ИММУНОЛОГИЧЕСКУЮ РЕАКТИВНОСТЬ МОРСКИХ СВИНОК

В настоящее время расширяется поиск веществ, направленно влияющих на иммунологическую реактивность. Ряд препаратов — продигозан [4], зимозан [1] — успешно апробированы в эксперименте и применяются для лечебных целей. Появились сведения о возможности воздействия на иммунологическую реактивность с помощью фитогемагглютинина (ФГА) [6, 7, 9], однако они очень немногочисленны и в значительной мере противоречивы.

Мы изучали влияние фитогемагглютинина на состояние центральных и периферических органов иммунитета.

Методика исследований

Здоровым морским свинкам (500 ± 20 г) вводили ФГА-П (Олайнский завод химреактивов, партия 4, активность 579) один раз в неделю девятикратно под кожу левой паховой области в дозах 1, 0,01 и 0,001 мг/кг в 0,5 мл физиологического раствора соответственно животным II, III и IV группы (по пять морских свинок в каждой группе). Животные I группы служили контролем. Спустя неделю после последней инъекции ФГА морских свинок забивали. За 24 ч до забоя всем животным, включая группу из пяти интактных морских свинок, ставили внутрикожные пробы с 0,2 мг ФГА по [2]. У забитых животных вычисляли индекс массы лимфоидных органов по [8]. Клеточные популяции тимуса, селезенки, правого и левого паховых лимфатических узлов исследовали в реакции плазматизации по [3]. В тимусе, селезенке, лимфатических узлах и костном мозге определяли процентное содержание Е- и ЕАС-розеткообразующих клеток по [10]. Изучали также реакцию бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) периферической крови по [5]. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики.

Результаты исследований

Длительное введение ФГА не сказывалось на общем состоянии животных, физиологическая прибавка веса у них происходила в той же степени, что и у интактных животных. Макроскопически отмечалось увеличение регионарного левого пахового лимфатического узла (индекс веса $0,00015 \pm 0,00002$ против $0,00004 \pm 0,00001$ у интактных животных, $p < 0,001$) и резко выраженная бороздка вдоль селезеночной артерии у всех животных, которым вводили ФГА. Тенденция к увеличению веса тимуса наблюдалась только у животных, которым вводили 1 и 0,01 мг/кг ФГА, однако, как и показатели индекса веса селезенки, различие статистической значимости не достигало.

При изучении реакции плазматизации в мазках-отпечатках лимфоидных органов на 5000 исследованных клеток подсчитывали количество плазмобластов, юных и зрелых плазматических клеток, а также молодых клеточных форм лимфоидного ряда — бластов и пролимфоцитов.

Таблица 1
Влияние ФГА на пролиферацию клеток лимфоидного ряда в тимусе, селезенке и лимфатических узлах здоровых морских свинок

Группа	Доза ФГА, мг/кг	Статистический показатель	Количество молодых клеток лимфоидного ряда (на 5000 клеток) в						
			тимусе		селезенке		лимфатических узлах		
			бласти	протимфоциты	бласти	пролимфоциты	левом (регионарном)	правом (контралатеральном)	пролимфоциты
I	—	$M \pm m$	$35,0 \pm 2,91$	$72,0 \pm 6,90$	$9,3 \pm 1,94$	$49,0 \pm 14,56$	$5,3 \pm 0,68$	$28,0 \pm 10,34$	$5,3 \pm 0,68$
II	1,0	$M \pm m$	$33,5 \pm 3,39$	$89,5 \pm 2,93$	$8,0 \pm 5,47$	$32,0 \pm 3,43$	$31,3 \pm 9,40$	$63,0 \pm 14,8$	$27,0 \pm 1,25$
III	0,01	p^*	$27,5 \pm 6,31$	$80,2 \pm 12,15$	$4,0 \pm 0,97$	$34,5 \pm 15,05$	$<0,05$	$<0,001$	$<0,02$
IV	0,001	p	$53,3 \pm 0,68$	$100,0 \pm 7,89$	$1,5 \pm 0,49$	$14,8 \pm 4,22$	$<0,01$	$<0,001$	$<0,01$
		p	$<0,01$	$<0,05$	$<0,01$		$12,5 \pm 1,48$	$70,0 \pm 18,23$	$14,0 \pm 6,40$
							$<0,01$		$73,5 \pm 15,27$

* достоверность отличий от показателей интактных животных (группа I).

Таблица 2
Содержание Е-РОК в лимфоидных органах, РБТЛ периферической крови и кожные пробы у животных, которым вводили ФГА

Группа	Доза ФГА, мг/кг	Статистический показатель	Процентное содержание Е-РОК в				РБТЛ, в %	Площадь кожных проб в мм ²
			тимусе	селезенке	лимфатических узлах			
					костном мозге			
I	—	$M \pm m$	62,2±3,40	46,0±0,97	5,2±0,48	4,0±0,97	30,0±6,83	155,3±45,53
II	1,0	$M \pm m$	29,8±5,68	5,0±0,68	4,0±2,50	4,0±0,97	17,8±3,39	13,2±2,45
		p^*	<0,01	<0,001				<0,05
III	0,01	$M \pm m$	44,8±4,61	6,5±2,67	4,5±2,43	1 7±0,34	14,7±2,67	92,8±36,10
		p	<0,05	<0,001				
IV	0,001	$M \pm m$	45,8±9,25	3,8±1,21	10,2±4,13	5,5±1,69	30,0±3,84	64,7±12,09
				<0,001				

* достоверность отличий от показателей интактных животных (группа I).

Достоверное увеличение количества зрелых плазматических клеток, до $14,0 \pm 2,50$ против $5,0 \pm 0,68$ у интактных животных ($p < 0,01$), происходило лишь в регионарных лимфатических узлах морских свинок, которым вводили по 1 мг/кг ФГА. В других органах изменения в популяциях плазматического ряда под действием ФГА были, в основном, недостоверными, поэтому в табл. 1 приводятся только данные о составе клеток лимфоидного ряда. Из таблицы видно, что введение ФГА вызывало значительное увеличение количества бластных форм как в регионарном, так и в контралатеральном лимфатических узлах, при этом большие дозы препарата (1 и $0,01 \text{ мг/кг}$) оказывали более выраженное бластогенное действие, чем доза $0,001 \text{ мг/кг}$.

Количество пролимфоцитов в лимфатических узлах также увеличивалось, однако четкой зависимости от дозы ФГА нам не удалось выявить. Так, наибольшее число пролимфоцитов определялось в регионарных лимфатических узлах морских свинок, которым вводили $0,01 \text{ мг/кг}$ ФГА. В контралатеральных лимфатических узлах степень увеличения количества пролимфоцитов в ответ на разные дозы ФГА была одинаковой.

В отличие от интактных животных, у всех морских свинок, которым вводили ФГА, в лимфатических узлах выявлялись тучные клетки ($2-4$ на 5000), количество которых также не зависело от примененной дозы препарата.

В тимусе количество бластов и протимоцитов увеличивалось только под влиянием $0,001 \text{ мг/кг}$ ФГА. Увеличение числа бластов в тимусе этих животных сопровождалось значительным ($p < 0,01$) уменьшением количества бластов и особенно пролимфоцитов в селезенке.

Проведенные исследования числа T -клеток (Е-РОК) и их функционального состояния (РБТЛ) показало (табл. 2), что умеренные дозы ФГА ($0,001 \text{ мг/кг}$) не вызывали достоверных изменений в содержании T -клеток в тимусе и костном мозге, но даже эта доза резко уменьшила их количество в селезенке. Функция лимфоцитов, циркулирующих в периферической крови, не нарушалась.

Большие дозы ФГА резко подавляли как количество T -лимфоцитов в тимусе и селезенке, так и их способность к бластной трансформации. Особенно серьезными эти нарушения были в селезенке.

Сопоставление данных реакции Е-розеткообразования и РБТЛ с клеточной структурой лимфоидных органов позволяет сделать заключение о том, что, по-видимому, ФГА вызывает нарушение миграции T -лимфоцитов в тимусзависимые зоны селезенки.

Число ЕАС-РОК, характеризующих B -систему лимфоцитов, под влиянием ФГА изменялось незначительно. Только в костном мозге животных, после введения $0,01 \text{ мг/кг}$ ФГА происходило уменьшение содержания ЕАС-РОК до $3,0 \pm 1,02\%$ против $8,5 \pm 1,69\%$ у интактных животных ($p < 0,05$).

Об угнетающем воздействии ФГА, особенно в дозе 1 мг/кг на T -систему иммунитета свидетельствует и снижение степени гиперчувствительности замедленного типа в ответ на внутрикожное введение препарата (табл. 2).

Таким образом, проведенные нами исследования позволяют заключить, что неспецифический митоген ФГА оказывает воздействие на иммунную систему морских свинок, главным образом на ее тимусзависимое звено. Степень этого влияния находится в прямой зависимости от дозы препарата.

Литература

1. Блажко И. И., Звиргзда А. Ю., Пирогова Т. Ф., Эльвих А. Я. К вопросу лечения зимозаном больных рассеянным склерозом.— В кн.: Зимозан в эксперименте и клинике. Матер. симпозиума. Рига, 1971, с. 205—209.
2. Богуц Л. К., Авербах М. М., Дубровский А. В., Говалло Л. И., Мороз А. М. Возможность применения кожной пробы с фитогемагглютинином для дифференциальной диагностики округлых образований легких.— Грудная хирургия, 1977, № 5, с. 104—107.
3. Гурвич Г. А. К методике цитосерологического исследования лимфоидной ткани.— В кн.: П. Ф. Здродовский. Проблемы инфекции, иммунитета и аллергии. М.: Медицина, 1969, с. 322—325.
4. Ермольева З. В., Вайсберг Г. Е., Тараненко Л. А. и др. Влияние ингаляции аэрозолей продигозана на некоторые показатели иммунобиологической реактивности организма в эксперименте.— Антибиотики, 1971, 16, № 12, 1076—1081.
5. Копелян И. И., Григорьева М. П. Разработка микромодификаций культивирования клеток крови человека.— Бюл. эксперим. биол. и мед., 1972, № 8, с. 119—122.
6. Лопухин Ю. М., Петров Р. В., Молоденков М. Н., Зубков Б. А., Поберий И. А. Применение ФГА для лечения ран.— В кн.: Молекулярная биология и молекулярная генетика патологических состояний в эксперименте и клинике. Тр. II МОЛГМИ, 1975, 37, № 1, с. 59—60.
7. Cowing C. O., Rauch H. C. Immunologic responses of guinea pigs treated with phytohemagglutinin.— Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 1974, 47, N 3, p. 440—450.
8. Mickie D. A simple method for estimation of total lymphoid organs' proliferation.— In: Weir D. M. (ed.) Handbook of Experimental Immunology. Blackwell/Oxford, 1967, p. 969.
9. Pilch B. Z., Gertner H. R., Chretien P. B. Suppression of immune responses in the guinea pig by phytohemagglutinin.— J. Surg. Oncol., 1971, 3, N 5, p. 525—532.
10. Sandberg G., Söder O., Ernstström U. Quantitation of B and T lymphocytes in guinea pigs with evidence for a release of both cell type from the spleen into the blood.— Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 1975, 50, N 3, p. 374—384.

Киевский институт туберкулеза
и грудной хирургии

Поступила в редакцию
15.I 1979 г.

E. F. Chernushenko, A. A. Chumak

INFLUENCE OF PHYTOHEMAGGLUTININ ON IMMUNOLOGICAL
REACTIVITY OF GUINEA PIGS

Summary

The influence of multiple administration of PHA in doses of 1, 0.01 and 0.001 mg/kg was studied as applied to the state of central and peripheral organs immunity in normal guinea pigs. A conclusion is made that PHA affects the immune system of guinea pigs, mainly its thymus-dependent link. The degree of this influence is in direct dependence on the preparation dose.

Institute of Tuberculosis and
Thoracic Surgery, Kiev