

ISSN 0201-8489

Физиологический журнал

Том XXV

1979

инв. 10106

6

CONTENTS

<i>Vardanyan I. K., Golubev N. N., Seslavina L. S., Sitkovsky M. V.</i> On the Problem of Interaction of Norepinephrine and Adrenoblocking Agents with Lymphoid Cells	627
<i>Ekhneva T. L.</i> Immunological Memory in Animals of Different Age	634
<i>Butenko G. M., Andrianova L. F., Ekhneva T. L.</i> Experimental Approaches to Restoration of the Immune Response Decline with Age	640
<i>Ado V. A.</i> Modelling of Chemical Allergoses, Their Specific Selective and Nonspecific Inhibition, Immunological Tolerance	645
<i>Tomilets V. A., Dontsov V. I., Zakharova I. A.</i> Immediate and Delayed Allergic Reactions to Group VIII Metals Salts in the Experiment	653
<i>Berezhnaya N. M., Bordonos V. G., Kuyun L. A., Yakhimovich L. V.</i> Experimental Modelling of Lungs Allergic Damage	658
<i>Antonenko V. T., Gorodetskaya S. F., Penkovskaya N. P.</i> Production and Immunological Study of the Effectivity of Anticytochromoxidase Serum to the Lymphoid Tissue of Experimental Animals	664
<i>Lisyany N. I., Men'shova M. A.</i> The Effect of Antilymphocytic Serum (ALS) on Immunoregulatory Properties of the Thymus and Lymphatic Node Cells in Intact and Heteroerythrocyte-Sensitized Mice	669
<i>Ilchevich N. V., Zelenskaya T. M., Nishchimenko O. V.</i> The Action of G and M Immunoglobulins Isolated from Testicular Antiserum on the Ruberal Rat Testicles	676
<i>Chernushenko E. F., Chumak A. A.</i> Influence of Phytohemagglutinin on Immunological Reactivity of Guinea Pigs	684
<i>Bobkova L. P., Negrey L. N.</i> Functional Activity of Lymphocytes in Patients with Bronchial Asthma at Different Schemes of Glucocorticoid Therapy	688
<i>Drannik G. N., Migal' L. A., Petrun' N. M., Belitskaya G. A.</i> Pathogenesis of Rejection of Renal Transplant and Correlation of Immunological and Biochemical Indices in Dynamics of Posttransplantation Period	693
<i>Alekseeva I. N., Timoshenko Yu. G.</i> Content of Rosette-Forming Cells in the Rat Thymus and Spleen Under Conditions of Different Functional State of the Liver	699
<i>Kasatkina M. G.</i> Activity and Isoenzyme Spectrum of Alkaline Phosphatase in Blood Serum of Rats with Partial Hepatectomy	705
<i>Veksler I. G., Ryabukha V. N., Ananenko V. P.</i> Radiometric Determination of the Functional State of the Liver Cells When Applying Certain Immunostimulators in the Experiment	710
<i>Barchenko L. I.</i> Electron-Microscopic and Cytochemical Study of the Primary Reactions of Lysosomes and Golgi Complex on the Effect of Small Doses of Specific Antibodies	715
<i>Vinnitsky V. B., Shevchenko I. N., Khmara V. A.</i> Radioautographic Studies of the DNA Synthesis in Cells of Rats Lymphatic Organs with DMBA-Induced Carcinogenesis Under Stimulation of the Posterior Hypothalamus	724
<i>Selezneva T. N., Kamenets L. Ya., Grinevich Yu. A.</i> The Peculiarities in the Immune Rosettes Formation by the Lymphoid System Cells Under the Thymosin Effect	730

Reviews

<i>Gulling E. V., Dyugovskaya L. A.</i> Forms of Lymphoid and Mast Cell Interaction	735
---	-----

Brief Notes

<i>Sambur M. B., Kravchuk G. P.</i> Effect of Thymosine on Ability of Guinea Pig Heated Thymocytes to Rosette-Formation	739
<i>Kovrikova N. P.</i> Effect of Total RNA on Formation of Transplantation Immunity in Rabbits	741
<i>Galenko T. I.</i> Development of Hypersensitivity of Inhibited Type on Injection of BCG in Different Functional State of the Liver	744
<i>...</i> Histophysiology of the Brain Subcortex When Injecting Specific Antisera	747
<i>...</i> of Mice Lymphoid Tissue Cells and with Benzene Intoxication	750
<i>...</i> dzhanova A. A., Preobrazhen- Thymopoetin, Thymosine and	754

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ
ИМ. А. А. БОГОМОЛЬЦА

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Том XXV, № 6, 1979

НОЯБРЬ—ДЕКАБРЬ

Научно-теоретический журнал

Выходит шесть раз в год

Основан в 1955 г.

Институт физиологии
им. А. А. Богомольца
АН УССР
БИБЛИОТЕКА

инв.10106

КИЕВ

«НАУКОВА ДУМКА»

Печатается по постановлению редакционной коллегии журнала

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Ф. Н. Серков (главный редактор)

В. А. Березовский, П. В. Бирюкович, П. Г. Богач, М. И. Гуревич, Б. Е. Есипенко, Н. В. Ильевич, В. П. Комиссаренко, П. Г. Костюк, А. А. Мойбенко, Н. И. Путилин, В. В. Сиротский, В. В. Фролькис, В. А. Черкес, З. А. Сорокина (ответственный секретарь)

Редакционный совет

<i>М. К. Босый</i>	<i>Н. Н. Горев</i>	<i>Ю. А. Спасокукоцкий</i>
<i>Н. В. Братусь</i>	<i>В. Я. Каруну</i>	<i>Р. О. Файтельберг</i>
<i>Ф. П. Ведяев</i>	<i>В. Н. Никитин</i>	<i>А. Б. Фельдман</i>
	<i>Я. П. Скларов</i>	

Адрес редакции: 252024, г. Киев, ул. Богомольца, 4
Тел. 91-20-84

Редактор *В. В. Войтенко*

Художественный редактор *Т. М. Немеровская*

Технический редактор *О. В. Дивуля*

Корректор *Л. А. Юван*

Сдано в набор 28.08.79. Подп. в печ. 30.10.79. БФ 29143. Формат 70×108/16. Вмс. печ. Усл. печ. л. 12,6. Уч. изд. л. 13,31. Тираж 910 экз. Заказ 9-762.

Издательство «Наукова думка», 252601, Киев, ГСП, ул. Репина, 3.
Киевская книжная типография научной книги Республиканского производственного объединения «Полиграфкнига» Госкомиздата УССР, 252004, Киев-4, ул. Репина, 4.

© Издательство «Наукова думка», «Физиологический журнал», 1979

УДК 612.617.087.843

И. К. Варданян, Н. Н. Голубева
Л. С. Сеславина, М. В. Ситковский

К ВОПРОСУ О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ НОРАДРЕНАЛИНА И АЛЬФА-АДРЕНОБЛОКАТОРОВ С ЛИМФОИДНЫМИ КЛЕТКАМИ

В периодической литературе последних лет появились экспериментальные данные об участии нейромедиаторов в иммуногенезе: прослежена динамика изменений содержания катехоламинов в крови и лимфоидных органах при первичном иммунном ответе [2], в опытах *in vitro* обнаружены рецепторы к норадреналину на лимфоцитах периферической крови [10, 16] и подтверждена роль адренергической регуляции метаболизма лимфоцитов [11]. Кроме того, выявлена адренергическая иннервация лимфоидных органов [3, 4, 8]. Однако характер влияния норадреналина на иммуногенез и, в частности, на иммунокомпетентные лимфоидные клетки остается не выясненным.

Целью настоящей работы была попытка выяснить некоторые стороны взаимодействия норадреналина и его антагонистов, близких друг другу по структуре альфа-адреноблокаторов пирроксана [6] и бутироксана [5] с лимфоидными клетками в условиях *in vitro*, для чего были использованы методические подходы, позволяющие определить влияние вещества на поверхностные рецепторные структуры клетки, некоторые пути обмена и реализацию этих влияний на функциональную активность лимфоцитов.

Методика исследований

Опыты проведены на мышах-самцах линии СВА, весом 18—20 г, которых поделили на две группы: I — интактные животные, II — иммунные (на шестой — седьмой день после однократной антигенной стимуляции). В части экспериментов (определение митостатического и лимфотоксического действия препаратов) использовали мышей F₁ (СВА×С57В1).

Для исследований использовали норадреналин, гидротартрат, пирроксан и бутироксан. Конканавалин А (ФРГ) меченый изотиоцианатом флюоресценна; кроличью сыворотку против иммуноглобулинов мышей (США), меченую изотиоцианатом флюоресценна.

Антигеном служили эритроциты барана (0,2 мл 25% взвеси для однократной внутрибрюшинной иммунизации).

Для определения взаимодействия препаратов с поверхностными мембранами лимфоцитов пользовались методиками: а) образования кепок «шапочек» — кеппинг рецепторов Конканавалина А (Кон А), б) кеппинг поверхностных Ig, индуцированных кроличьей антимышиной сывороткой. Обе реакции ставили по [13] в присутствии норадреналина в двух концентрациях (1 мг/мл и 0,1 мг/мл), а также пирроксана и бутироксана в концентрации 0,1 мг/мл. Контролем служил раствор Хенкса. Проведено по 10 экспериментов с клетками тимусов и селезенки от интактных и иммунных животных. Микроскопические исследования проведены на микроскопе Люмам И-3.

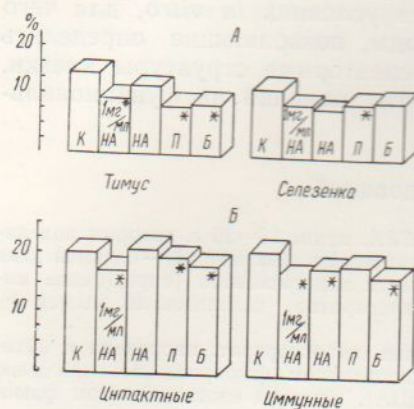
Для изучения влияния норадреналина и альфа-адреноблокаторов на метаболизм лимфоцитов исследовали митохондриальные дегидрогеназы: сукцинатдегидрогеназу (сукцинат: (акцептор)-оксидоредуктаза 1.3.99.1), определяющую активность цикла Кребса; альфа-глицерофосфатдегидрогеназу (альфа-глицерол-3-фосфат: (акцептор)-оксидоредуктаза 1.1.99.5), характеризующую взаимосвязь гликолиза и дыхания и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу (Д-глюкозо-6-фосфат: НАДФ-оксидоредуктаза 1.1.1.49), основной фермент пентозо-фосфатного пути, который служит в клетке главным поставщи-

ком рибозофосфатов, связанных в свою очередь с синтезом нуклеиновых кислот. Активность ферментов изучали по [7], контролем служила среда Игла.

Действие норадреналина и альфа-адреноблокаторов на функцию иммуокомпетентных клеток изучали на модели [9, 14], позволяющей одновременно отдифференцировать митостатическое действие препарата (подавление пролиферации стволовых клеток-предшественников клеток крови и В-лимфоцитов) от лимфотоксического, то есть непосредственного действия на Т-лимфоциты истинного иммуносупрессивного действия. Клетки лимфоузлов и костного мозга доноров обрабатывали в течение часа норадреналином (1,25 и 30 мг/мл), пирроксаном или бутироксаном 1,25, 50, 100 и 130 мг/мл *in vitro* при 37°С (контролем служила среда 199) перед введением их в организм реципиента. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия *t* Стьюдента и *U* — Вилкоксона — Манна — Уитни.

Результаты исследований

Взаимодействие норадреналина и альфа-адреноблокаторов с поверхностной мембраной лимфоцитов изучали в экспериментах по определению кеппинга (латеральной диффузии) рецепторов Кон А, представляющих собой интегральные мембранные гликопротеиды с маннозидными остатками в углеводных цепях. Об изменении состояния поверхностных мембран под действием норадреналина, пирроксана и бутироксана судили по изменению параметров лектин-индуцированного перераспределения рецепторов Кон А. После мечения клеток лектином и инкубации при 37°С, то есть в температурных условиях, способствующих латеральной диффузии компонентов биологических мембран [12] на периферии клеточной оболочки появляются большие скопления рецепторов — «кластеры», которые затем собираются на одном из полюсов клетки и образуют так называемые «шапки» — кепы. Как



Влияние норадреналина и альфа-адреноблокаторов (мг/мл) на кеппинг рецепторов Кон А и поверхностных Ig.

А — кеппинг рецепторов Кон А на лимфоцитах intactных мышей, Б — кеппинг поверхностных Ig на клетках селезенки intactных и иммунных мышей. К — контроль, НА — норадреналин, П — пирроксан, Б — бутироксан, * — $p < 0,05$.

видно из рисунка, обнаружено достоверное снижение кеппинга рецепторов Кон А в клетках тимуса intactных животных под действием норадреналина (1 мг/мл), пирроксана и бутироксана (0,1 мг/мл); пирроксан также снижал кеппинг рецепторов Кон А в селезенке intactных животных. В клетках тимуса и селезенки иммунных животных параметры кеппинга рецепторов Кон А после контакта с норадреналином, пирроксаном и бутироксаном не отличались от контроля. Таким образом, установлено изменение состояния поверхностных мембран лимфоидных клеток тимуса и отчасти селезенки intactных животных под действием норадреналина, пирроксана и бутироксана. В экспериментах по определению анти-Ig индуцированного кеппинга поверхностных иммуноглобулинов было установлено (см. рисунок), что в клетках селезенки intactных животных латеральная диффузия Ig поверхностных

мембран снижается только при действии высокой дозы норадреналина (1 мг/мл), а также обоих альфа-адреноблокаторов. В клетках селезенки иммунных животных параметры кеппинга в контроле достоверно ниже, чем в контроле у интактных животных. В этой группе (иммунных мышей) было отмечено снижение кеппинга под действием обеих доз норадреналина (1 и 0,1 мг/мл), а также бутироксана. Следовательно, норадреналин и альфа-адреноблокаторы вызывают физико-химические изменения поверхностных мембран лимфоцитов, что выражается в снижении кеппинга рецепторов Кон А только в клетках интактных животных, тогда как при кеппинге поверхностных Ig снижение параметров наблюдается также в клетках иммунных животных.

Таблица 1

Действие норадреналина и альфа-адреноблокаторов на активность митохондриальных дегидрогеназ лимфоцитов

Препарат	Клетки интактных животных						Клетки иммунных животных					
	тимус			селезенка			тимус			селезенка		
	СДГ	α-ГФДГ	ГЛ-6-ФДГ	СДГ	α-ГФДГ	ГЛ-6-ФДГ	СДГ	α-ГФДГ	ГЛ-6-ФДГ	СДГ	α-ГФДГ	ГЛ-6-ФДГ
Норадреналин	↑	↓	0	0	↓	0	0	0	↑	0	0	0
Пирроксан	0	0	0	0	↓	0	↓	↓	0	↓	↑	0
Бутироксан	↓	↓	0	0	0	0	↓	0	↑	0	↑	0

Примечание. ↑ — достоверное увеличение, ↓ — достоверное снижение, 0 — без изменений.

Влияние норадреналина и альфа-адреноблокаторов на метаболизм лимфоцитов. В этой серии экспериментов все препараты применяли в концентрации 10 мкг/мл. Как видно из табл. 1, норадреналин вызывает разобщение сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и альфа-глицерофосфатдегидрогеназы (α-ГФДГ) в клетках тимуса и, в меньшей степени, селезенки интактных животных; подобный же эффект проявляет пирроксан в клетках селезенки интактных животных, тогда как бутироксан ингибирует активность СДГ и α-ГФДГ, не изменяя ее в клетках селезенки. Иной характер изменений активности митохондриальных дегидрогеназ при контакте с норадреналином и альфа-адреноблокаторами выявлен в клетках иммунных животных. Норадреналин не оказывал влияния на СДГ и α-ГФДГ клеток тимуса и селезенки, тогда как пирроксан ингибировал активность этих ферментов в тимусе, а в селезенке вызывал их разобщение; бутироксан разобщал активность СДГ и α-ГФДГ в клетках тимуса и селезенки. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (ГЛ-6-ФДГ) увеличивалась только в клетках тимуса иммунных животных как посредством норадреналина, так и бутироксана. Таким образом, выявлено разнонаправленное действие норадреналина и его блокаторов в клетках интактного тимуса, а также иммунной селезенки.

Влияние норадреналина и альфа-адреноблокаторов на функцию лимфоидных клеток. Обработка донорских клеток лимфоузлов и костного мозга норадреналином и альфа-адреноблокаторами в течение одного часа с последующим введением их в организм реципиента с целью культивирования *in vitro* позволила установить (табл. 2), что норадреналин в дозе 25 мг/мл обладает стимулирующим действием на митогенез, тогда как пирроксан, напротив, его угнетает. Оба альфа-

Таблица 2
Определение митостатического и лимфотоксического действия норадреналина и альфа-адреноблокаторов при обработке клеток *in vitro*

Препарат	Дозы, в мг/мл	Среднее число экзогенных колоний в селезенке летально облученных мышей при трансплантации клеток костного мозга 1×10^5 (митостатическое действие)	p	Среднее число эндоколоний в селезенках сублетально облученных мышей при трансплантации клеток лимфоузлов 1×10^6 (лимфотоксическое действие)	p
Контроль без введения клеток и препаратов					
Контроль клеток		$27,7 \pm 1,4$		$2,7 \pm 1,4$	
Норадреналин				$0,4 \pm 0,2$	
	1	$25,8 \pm 3,2$			
	25	$33,6 \pm 2,3$		$1,0 \pm 0,47$	
	30	$29,2 \pm 2,9$	0,05	$0,6 \pm 0,27$	
Пирроксан	1	$3,7 \pm 0,7$		$2,3 \pm 1,99$	
	25	$0,13 \pm 1,13$	0,01	$4,1 \pm 1,2$	0,02
	50	$1,5 \pm 1,2$	0,01	$3,9 \pm 1,2$	0,01
	100	0 ± 0	0,01	$4,2 \pm 1,6$	0,05
	130	0 ± 0	0,01	$3,1 \pm 0,9$	0,02
Бутироксан	1	$27,6 \pm 2,5$	0,01	$8,7 \pm 3,7$	0,01
	25	$23,2 \pm 3,1$		$2,9 \pm 0,86$	0,05
	50	$28,7 \pm 1,9$		$1,9 \pm 0,77$	
	100	$31,7 \pm 2,6$		$2,5 \pm 0,98$	0,1
	130	$23,0 \pm 9,45$		$3,0 \pm 1,64$	
				$2,6 \pm 0,69$	0,02

Примечание. значения *p* проставлены только при достоверных изменениях.

адреноблокатора оказывали цитотоксическое действие на лимфоциты. Таким образом, в этой серии экспериментов, как и при изучении метаболизма получена разнонаправленность действия норадреналина и, по крайней мере одного из альфа-адреноблокаторов.

Обсуждение результатов исследований

Наши данные по изучению действия норадреналина и альфа-адреноблокаторов позволяют считать, что взаимодействие этих препаратов с поверхностными мембранами лимфоидных клеток реализуется посредством изменения некоторых сторон метаболизма на функциональном уровне. (табл. 3). Обращает на себя внимание тот факт, что норадреналин как и альфа-адреноблокаторы снижает параметры кеппинга рецепторов Кон А и поверхностных Ig, причем этот эффект проявляется не во всех концентрациях норадреналина, а только в дозе 1 мг/мл и не во всех сериях экспериментов. Так, в клетках тимуса интактных животных наблюдается ингибция параметров кеппинга рецепторов Кон А всеми препаратами и отсутствие этого эффекта на тимocyтах иммунных животных.

В клетках селезенки интактных животных только пирроксан ингибировал кеппинг рецепторов Кон А, тогда как в клетках селезенки группы иммунных животных ни один из препаратов не изменял величину кеппинга по сравнению с контролем. Совершенно иные изменения выявлены при изучении кеппинга поверхностных Ig. Отмечалось снижение параметров латеральной диффузии Ig поверхностной мембраны под действием норадреналина (1 мг/мл), пирроксана и бутироксана в клетках интактных селезенки, тогда как в клетках селезенки

Таблица 3

Суммарные данные по влиянию норадреналина и альфа-адреноблокаторов на поверхность, обмен и функцию лимфоцитов

Препараты, в мг/мл	Поверхностные мембраны		Обмен		Функция по эффекту
	Рецепторы к Кон А	Ig	СДГ	α-ГФДГ	
Тимоциты интактных животных					
Норадреналин					цитотоксическо-
1	↓	—	—	—	му
0,1	0	—	0 ↑	0 ↓	0
Пирроксан	↓	—	0 ↓	0 ↓	—
Бутироксан	↓	—	0 ↓	0 ↓	↑
Тимоциты иммунных животных					
Норадреналин					
1	0	—	—	—	0
0,1	0	—	0 ↓	0 ↓	—
Пирроксан	0	—	0 ↓	0 ↓	↑
Бутироксан	0	—	0 ↓	0 ↓	↑
Лимфоциты селезенки интактных животных					
Норадреналин					митостатическо-
1	0	↓	—	—	му
0,1	0	0	0 ↓	—	—
Пирроксан	↓	↓	0 ↓	↓	↓
Бутироксан	0	↓	0 ↓	0	↓
Лимфоциты селезенки иммунных животных					
Норадреналин					
1	0	↓	—	—	↑
0,1	0	0	0 ↓	0 ↑	0
Пирроксан	0	0	0 ↓	↑	↓
Бутироксан	0	↓	0 ↓	↑	↓

Примечание. ↑ — достоверное повышение по сравнению с контролем, ↓ — достоверное снижение по сравнению с контролем, 0 — отсутствие эффекта, «—» — эксперимент не ставили, ↑↑ — тенденция к повышению по сравнению с контролем, ↓↓ — тенденция к снижению по сравнению с контролем.

группы иммунных животных отмечено ингибирующее действие обеих доз норадреналина и бутироксана. Согласно модели строения клеточной мембраны [15], снижение латеральной диффузии таких интегральных белков поверхностной мембраны как Ig и рецепторы Кон А-гликопротеиды, указывает на определенные физико-химические изменения ее свойств, а именно, снижение «жидкости». Полученные результаты свидетельствуют о том, что как норадреналин, так и оба альфа-адреноблокатора взаимодействуют с поверхностными мембранами разных лимфоидных органов, оказывая однонаправленное влияние. Вместе с тем, вероятно, рецептивные участки Кон А и Ig поверхностных мембран не являются идентичными с точки зрения их различного поведения при взаимодействии с норадреналином и альфа-адреноблокаторами. Следует также отметить, что при достаточно высоких концентрациях норадреналина вызываемые им эффекты могут быть следствием стимуляции β-адренорецепторов [1]. Изменения, вызванные норадреналином и альфа-адреноблокаторами в метаболизме не являются однонаправленными, как и в рецепторах поверхностных мембран.

Показано, что норадреналин разобщает метаболизм в клетках интактного тимуса, активируя СДГ и снижая активность α -ГФДГ. Такого типа разобщения альфа-адреноблокаторы ни в одной серии экспериментов не дают. В клетках иммунного тимуса норадреналин не вызывает разобщение гликолиза и дыхания, но активирует ГЛ-6-ФДГ, то есть пентозо-фосфатный путь. Анализируя изменения метаболизма под действием альфа-адреноблокаторов, следует обратить внимание на тот факт, что в клетках тимуса и селезенки интактных мышей они, в основном, обладали однонаправленным эффектом, снижая активность одного или обоих ферментов или проявляя тенденцию к этому снижению. В то же время в клетках селезенки иммунных животных пирроксан и бутироксан разобщали (более выражено при применении пирроксана) активность гликолиза и дыхания вследствие активации гликолиза. Бутироксан, как и норадреналин, повышал активность ГЛ-6-ФДГ. Таким образом, модификация норадреналином, пирроксаном и бутироксаном физико-химических свойств поверхностных мембран лимфоцитов (так называемый «трансмембранный сигнал») по-разному реализуется на метаболическом уровне. Эта разнонаправленность метаболических изменений сказывается на функциональной активности клеток. Так, если норадреналин не обладал цитотоксическим эффектом на *T*-клетки, то пирроксан и бутироксан оказывали на них достоверное лимфотоксическое действие. То же самое следует отметить и в отношении действия на митогенез клеток предшественников *B*-лимфоцитов и клеток крови. Если норадреналин стимулировал митогенез, то пирроксан достоверно снижал этот процесс, а бутироксан вызывал тенденцию клеток к снижению митогенеза. Полученные данные свидетельствуют о сложных механизмах взаимодействия норадреналина и альфа-адреноблокаторов с поверхностными мембранами лимфоцитов, что находит свое отражение в различном их действии на метаболизм и функцию иммунокомпетентных клеток, свидетельствуя о различии в структуре их активных центров.

Выводы

1. Норадреналин и альфа-адреноблокаторы изменяют физико-химическую структуру поверхностных мембран лимфоцитов лимфоидных органов.
2. Норадреналин и альфа-адреноблокаторы оказывают разнонаправленное влияние на метаболизм клеток тимуса и селезенки интактных и иммунных животных.
3. Норадреналин и альфа-адреноблокаторы разнонаправленно изменяют функциональные свойства лимфоцитов: норадреналин стимулирует митогенез и не обладает цитотоксическим действием на *T*-лимфоциты; альфа-адреноблокаторы снижают митогенез стволовых клеток предшественников *B*-лимфоцитов и обладают лимфотоксическим действием.

Литература

1. Авакян О. М. Симпато-адреналовая система.— Ленинград: Наука, 1977.—286 с.
2. Васина И. Г., Полосина О. Б., Цыпин А. Б., Шальнев Б. И. Особенности содержания катехоламинов в органах иммуногенеза при антигенной нагрузке.—В кн.: Физиология иммунного гомеостаза. Ростов н/Дону, 1977, с. 54—55.
3. Гордон Д. С., Зеленова И. Г., Леонова Л. К., Сергеева В. Е., Михеева З. И. Адренергические структуры лимфоидной ткани, зубной железы, нервных ганглиев, надпочечников.—В кн.: Тезисы VIII Всес. съезда анатомов, гистологов, эмбриологов. Ташкент, 1974, с. 106.

4. Зеленова И. Г. Адренергическая иннервация селезенки кошки.— Архив анат. гистол. и эмбриол., 1971, 60, № 2, с. 38—41.
5. Крылов С. С., Старых Н. Т., Кузнецов С. Г., Чигарев А. Г. А. с. 513699 (СССР). Лекарственное средство, обладающее адреноблокирующим действием.—Опубл. Б. И., 1976, № 18, (15 мая).
6. Крылов С. С., Старых Н. Т. Фармакологическая характеристика пирроксана.—Фармакол. и токсикол., 1973, 36, № 4, с. 396—399.
7. Нарциссов Р. П. Применение п-нитротетразолия фиолетового для количественной цитохимии дегидрогеназ лимфоцитов человека.— Архив анатом., гистол. и эмбриол., 1969, 56, № 5, с. 85—91.
8. Сергеева В. Е., Дзамашвили К. С., Тимофеева Г. М. Внутриорганный иннервация тимуса с дифференцированным выявлением вегетативных компонентов.— Архив анатом., гистол. и эмбриол., 1974, 96, № 6, с. 56—64.
9. Петров Р. В., Манько В. М., Хаитов Р. М., Сеславина Л. С. Экспериментальная модель одновременного определения митостатического и лимфотоксического действия цитостатиков и иммунодепрессоров.— Цитология, 1972, 14, № 1, с. 121—127.
10. Hadden J. W., Hadden E. M., Middleton E. Lymphocyte blast transformation. I. Demonstration of adrenergic receptors in human peripheral lymphocytes.— Cell. Immunol., 1970, N 1, p. 583—595.
11. Hadden J. W., Hadden E. M., Good R. A. Adrenergic mechanisms in human lymphocyte metabolism.— Biochim. et biophysica acta, 1971, 237, p. 339—347.
12. Nicolson G. L. Temperature-dependent mobility of Concanavalin A sites on tumor cell surfaces.— Nature (New Biol.), 1973, 243, p. 218—220.
13. de Petris S. Concanavalin A receptors, immunoglobulins and O antigen of the lymphocyte surface. Interactions with Concanavalin A and with cytoplasmic structures.— Cell Biol., 1975, 65, p. 123—146.
14. Petrov R. V., Manyo V. M., Khaitov R. M., Seslavina L. S. An experimental system for simultaneous estimation of mitostatic and lymphotoxic effects of immunosuppressants and cytostatics.— J. Exper. med., 1971, 133, p. 640—648.
15. Singer S. J. The molecular organisation of biological membranes.—In: Structure and function of biological membranes. N. Y., 1971, p. 145—222.
16. Weinstein V., Melmon K. L., Bourne H. R., Sela M. Specific leucocyte receptor for small endogeneous hormones. Detection by cell binding to insolubilised hormone preparations.— J. Clin. Invest., 1974, 52, N 6, p. 1349—1361.

Лаборатория по пересадке органов
и тканей АМН СССР, Москва

Поступила в редакцию
2.II 1979 г.

I. K. Vardanyan, N. N. Golubeva, L. S. Seslavina, M. V. Sitkovsky

ON THE PROBLEM OF INTERACTION OF NOREPINEPHRINE AND α -ADRENOBLOCKING AGENTS WITH LYMPHOID CELLS

Summary

An attempt is made to find out the effect of norepinephrine and alpha-adrenoblocking agents on the lymphocyte surface membranes and realization of a transmembrane signal at the metabolic and functional level of the immunocompetent cells. It is shown that unidirectional inhibitory effect of the above drugs provokes different changes in metabolism, which results in various functional changes of immunocompetent cells.

Laboratory of Organ and Tissue Transplantation,
Academy of Medical Sciences, USSR, Moscow

УДК 612.67.017.12:612.112.94

Т. Л. Ехнева

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ПАМЯТЬ У ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

За последние годы накоплены данные, свидетельствующие о том, что изменение антителообразования в старости — процесс неоднозначный. Так, если на первое введение антигена иммунный ответ в старом возрасте снижен [8, 16, 20], то при повторном и последующих воздействиях тем же антигеном он может быть равен и даже превышать ответ в более ранние возрастные периоды [3, 4, 6, 11, 14]. Одно из объяснений указанного факта может быть связано с высоким уровнем формирования иммунологической памяти в старости. Возможно, после первого контакта с антигеном в старом организме, независимо от величины первичного ответа, остается достаточно большое количество клеток памяти. В пользу такого предположения могут свидетельствовать данные о том, что подавление образования антител к гаптену не связано с торможением формирования памяти к нему при введении комплекса гаптен-носитель (динитрофенол-гемоцианин) [17], а клетки памяти при иммунизации бараньими эритроцитами не идентичны с клетками, секретирующими антитела [18], и могут быть отделены от клеток — эффекторов хелперной активности [7].

К выводу о том, что иммунологическая память сохраняется без значительного расстройства в процессе старения, пришли Фингер и Эммерлинг [12, 13] на основании косвенных данных: через 8 мес после примирования 3- и 12-месячных мышей они получили одинаковый вторичный ответ у животных обеих возрастных групп.

Методика исследований

Для изучения клеток памяти была избрана модель воспроизведения вторичного ответа у смертельно облученных реципиентов после переноса им клеток селезенки от примированных сингенных доноров разного возраста. Доноры — мыши линии СВА, самки, двух возрастных групп: молодые зрелые — 3—4 мес и старые — 24—28 мес. Реципиенты — мыши той же линии 3—4 мес возраста. Реципиентов облучали на аппарате РУМ-13 (фильтры: Си — 0,5 и А1 — 1,0) в дозе 850 Р. В день облучения и в последующие дни животные получали питьевую воду с антибиотиками (1,13 г мономицина и 113 мг полимиксина М — сульфата на 1 л воды). Примирование доноров проводилось за 30—40 дней до переноса им клеток реципиентам. Этот срок является оптимальным для развития памяти при введении антигенов различной силы [5]. Антиген — бараньи эритроциты — вводили внутривенно в двух дозах: 5×10^6 и 5×10^8 клеток. Использование двух доз антигена для примирования основывается на данных об обратной зависимости образования иммунологической памяти от силы антигенного воздействия [5, 10], а также на обнаруженном нами факте различной возрастной активности антителообразования при действии антигена различной силы [3].

О клетках памяти у доноров судили по количеству антителообразующих клеток в селезенках реципиентов на шестой, седьмой и восьмой дни после переноса 10^7 ядродержащих клеток селезенки примированных доноров вместе с 5×10^8 эритроцитов барана. Различные сроки исследования связаны с наличием данных об одно-двухдневном отставании пика ответа у старых животных [13].

IgM и IgG антителообразующие клетки (прямые и непрямые бляшкообразующие клетки — ПБОК и НБОК) определяли методом локального гемолиза в геле [9, 15]. Не-

обходимую для выявления непрямы БОК анти-IgG сыворотку готовили посредством двукратной иммунизации кроликов иммуноглобулином G, выделенным на сефадексе G-200 из сыворотки крови мышей: первое введение—4 мг (по белку) препарата с полным адьювантом Фрейнда подкожно, через две—три недели, второе введение—4 мг препарата внутривенно. Сыворотка в разведении 1:50 давала пяти-шестикратное увеличение количества бляшкообразующих клеток. В таком разведении она и употреблялась в опыте. Поскольку анти-IgG сыворотка одновременно с усилением НБОК может тормозить до 25—30% ПБОК [21], для характеристики НБОК приводится общее количество БОК, полученное после действия сыворотки.

Лимфоидные клетки сингенного донора вызывают восстановление лимфоидной системы облученного реципиента, поэтому для характеристики восстанавливающей способности перенесенных клеток селезенки примированного донора определяли селезеночный индекс (отношение веса селезенки к весу тела, умноженное на 100) и общий цитоз в селезенках реципиентов.

Параллельно у отдельной группы животных-доноров через 30—40 сут после примирования определяли количество розеткообразующих клеток — РОК в селезенках. Поскольку РОК — это антигенсвязывающие клетки, к ним должны относиться и клетки памяти у иммунных животных. Сопоставляя количество РОК у доноров с выявленным у интактных животных, можно в какой-то степени судить об относительном количестве клеток памяти у доноров. РОК определяли по [24], с небольшими изменениями (для постановки розеткообразования использовался раствор Хенкса с 0,01% человеческого альбумина).

Статистическая обработка показателей селезеночного индекса и количества кариоцитов в селезенке производилась с помощью непараметрического критерия Вилкоксона—Манна—Уитни [2], а количества РОК и БОК с помощью средних геометрических [1]. В первом случае приводятся медианы и минимальные и максимальные показатели в каждой группе наблюдений, во втором — средние геометрические с указанием ошибки средней.

Каждая группа наблюдений включает данные, полученные при переносе клеток от 10—12 доноров. Клетки от одного донора одновременно переносили двум—трем реципиентам. Полученные показатели усредняли.

Результаты исследований

Перенос клеток селезенки от примированных доноров смертельно облученным реципиентам вызывает у них восстановление лимфоидной системы. Об этом можно судить по величине селезеночного индекса и количеству кариоцитов в селезенках (табл. 1). Из приведенных данных видно, что при восстановлении клетками от молодых доноров селезеночный индекс у реципиентов во все сроки исследования выше, чем при восстановлении клетками от старых животных. Различия в величине селезеночного индекса на протяжении исследуемого периода (шестой, седьмой и восьмой дни) у животных одной и той же группы хотя и не подтверждены статистически, однако максимальные его величины почти во всех случаях отмечаются на седьмой день.

Доза антигена, используемая для примирования доноров, оказывает определенное влияние на величину селезеночного индекса у реципиентов. Этот показатель после переноса клеток от доноров I и II групп выше, чем от доноров III и IV групп. Однако статистически различия доказаны не во всех случаях. Аналогичны и данные общего содержания кариоцитов в селезенке реципиентов (табл. 1).

Итак, клетки от молодых примированных доноров вызывают в селезенках облученных реципиентов более эффективное восстановление лимфоидной ткани (по селезеночному индексу и количеству кариоцитов), чем клетки от старых примированных доноров. Обнаружена также более выраженная восстанавливающая активность клеток, примированных меньшей дозой антигена.

При исследовании антителообразующих клеток в селезенках реципиентов обращают на себя внимание следующие моменты (см. рисунок): 1) количество прямых и непрямы БОК после переноса клеток от молодых доноров выше, чем от старых животных; 2) примирование

Таблица 1
Селезеночный индекс и количество кардиоцитов на селезенку у реципиентов на шестой, седьмой и восьмой дни после переноса им 10^7 клеток селезенки (+ антиген) от молодых и старых доноров, привитых 5×10^6 и 5×10^8 бараньих эритроцитов

Группа	Примиряющая доза эритроцитов барана	Доноры	Селезеночный индекс				Кардиоциты на селезенку ($\times 10^6$)			
			Дни исследования				Дни исследования			
			6	7	8		6	7	8	
I	5×10^6	Молодые	0,32 (0,16—0,84)	0,32 (0,17—0,51)	0,29 (0,20—0,37)		4,4 (1,5—7,0)	6,5 (3,3—13,3)	5,6 (3,0—8,8)	
II		старые P I—II	0,20 (0,13—0,38) =0,05	0,26 (0,15—0,48) <0,05	0,22 (0,16—0,29) ≥0,05		3,1 (1,5—5,4) =0,005	4,4 (2,3—6,6) <0,01	4,1 (2,0—7,0) >0,05	
III	5×10^8	Молодые	0,24 (0,15—0,33)	0,29 (0,12—0,48)	0,27 (0,19—0,45)		4,0 (1,2—20,0)	5,0 (2,3—10,3)	5,5 (3,1—11,6)	
IV		старые P III—IV	0,22 (0,09—0,38) >0,05	0,24 (0,12—0,32) <0,01	0,18 (0,17—0,20) <0,001		3,1 (1,4—20,0) >0,05	3,5 (2,1—5,5) =0,05	2,6 (1,4—2,9) =0,025	

Таблица 2
Селезеночный индекс, количество кардиоцитов и количество РОК на селезенку у интактных мышей и мышей, привитых 5×10^6 или 5×10^8 бараньих эритроцитов, через 30—40 дней после введения антигена

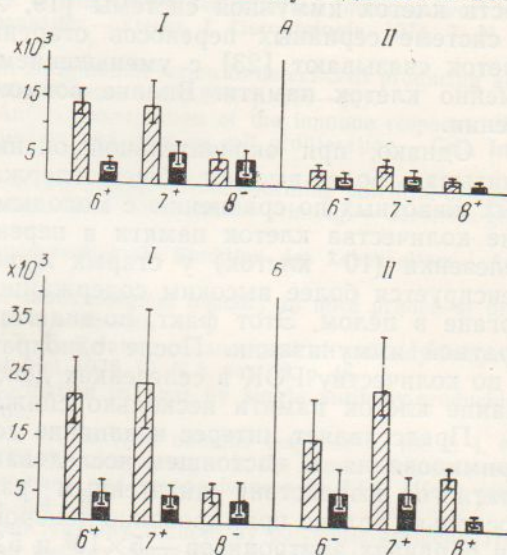
Группа мышей	Селезеночный индекс			Кардиоциты/селезенку ($\times 10^7$)			РОК/селезенку ($\times 10^3$)		
	Дни исследования			Дни исследования			Дни исследования		
	Молодые	Старые	P ₁	Молодые	Старые	P ₁	Молодые	Старые	P ₁
Интактные									
Привитые бараньими эритроцитами в дозе 5×10^6	0,38 (0,31—0,42)	0,47 (0,40—0,74)	<0,01	14,4 (9,0—24,0)	21,6 (13,2—40,0)	<0,01	2,9 (3,3—2,5)	2,0 (2,5—1,6)	>0,05
5×10^8	0,38 (0,29—0,52)	0,56 (0,39—1,11)	<0,001	14,0 (8,4—18,9)	20,0 (9,0—35,0)	<0,001	19,2 (23,1—16,0)	9,0 (12,0—6,6)	<0,05
P ₂	0,39 (0,34—0,44)	0,59 (0,29—1,29) >0,05	<0,001	15,9 (10,0—22,2)	24,5 (16,7—41,6) <0,05	<0,005	4,0 (4,7—3,4) <0,001	3,1 (3,6—2,7) <0,01	>0,05

Примечание. P₁—достоверность различий между группой старых и молодых животных; P₂—достоверность различий между двумя группами, привитыми разными дозами антигена.

доноров меньшей дозой антигена вызывает достаточно активный ответ и прямых, и непрямых БОК, тогда как примирование значительно большей дозой вызывает в основном ответ непрямых БОК; 3) максимум ответа почти во всех случаях наблюдается на седьмой день: различия, однако, статистически доказаны только между седьмым и вось-

Количество прямых (А) и непрямых (Б) бляшкообразующих клеток (ПБОК и НБОК) на селезенку (по вертикали) у реципиентов на шестой, седьмой и восьмой дни после переноса им 10^7 клеток селезенки (+антиген) от молодых (заштрихованные столбики) и старых (черные столбики) доноров, примированных 5×10^6 (I) и 5×10^8 (II) эритроцитов барана.

По горизонтали — дни исследования. «+» или «-» — наличие или отсутствие достоверности возрастных различий.



мым днями. Итак, и по количеству антителообразующих клеток ответ клеток селезенки от молодых доноров выше, чем от старых животных.

Поскольку по ответу реципиентов судили о наличии клеток памяти только в определенном, переносимом количестве клеток селезенки примированных доноров, для общей характеристики клеток памяти у молодых и старых животных исследовали селезеночный индекс, количество кариоцитов и РОК на всю селезенку у доноров через 30—40 дней после примирования (табл. 2). Из представленного материала видно, что у старых мышей первые два показателя выше, а количество РОК меньше, чем у молодых. Кроме того видно, что примирование меньшей дозой антигена сопровождается наличием большего количества РОК на всю селезенку по сравнению с примированием стократно превышающей дозой антигена.

Обсуждение результатов исследований

Исследование клеток селезенки примированных доноров во втором ответе у реципиентов производилось, как уже указывалось, через 30—40 дней после примирования. По количеству антителообразующих клеток у реципиентов, которым одновременно с клетками селезенки доноров вводили и разрешающую дозу того же антигена, судили об относительном количестве клеток памяти у доноров. Поскольку от молодых и старых доноров переносили реципиентам одинаковое количество кариоцитов селезенки — 10^7 клеток, исходя из полученных данных, можно сделать заключение о том, что в переносимом количестве лимфоидных клеток от старых животных находится меньше клеток памяти к данному антигену. Возможно, однако, что клетки памяти от старых доноров хуже пролиферируют и дифференцируются в антителообразующие клетки в организме реципиентов по сравнению

с клетками от молодых доноров. В пользу последнего предположения свидетельствует тот факт, что общий цитоз в селезенках облученных реципиентов, восстановленных клетками от старых доноров, также оказывается сниженным (табл. 1). В литературе есть данные о снижении с возрастом пролиферативной и дифференцировочной способности клеток иммунной системы [19, 22, 23]. Причем, обнаруженное в системе серийных переносов старение клона антителообразующих клеток связывают [23] с уменьшением пролиферативной способности именно клеток памяти. Вполне возможно, что верны оба предположения.

Однако, при окончательной оценке полученного факта следует учитывать более высокое общее содержание клеток в селезенках у старых животных по сравнению с молодыми (табл. 2). Возможное снижение количества клеток памяти в переносимом количестве кариоцитов селезенки (10^7 клеток) у старых животных в какой-то степени компенсируется более высоким содержанием лимфоидных клеток во всем органе в целом. Этот факт, по-видимому, имеет значение при многократной иммунизации. После однократного введения антигена, судя и по количеству РОК в селезенках доноров, у старых животных содержание клеток памяти несколько снижено по сравнению с молодыми.

Представляет интерес и влияние дозы антигена, используемой для примирования. В настоящем исследовании определяли результат однократного воздействия антигенным раздражителем различной силы, поскольку только примирование доноров производили различными дозами бараньих эритроцитов — 5×10^6 и 5×10^8 клеток, а вторичный антигенный стимул в организме реципиентов был одинаков в обоих случаях — 5×10^8 . В этих условиях однократного воздействия различными дозами антигена более выраженные возрастные различия получены при использовании меньшей дозы.

Выводы

1. В модели адоптивного переноса клетки селезенки от старых примированных доноров дают меньший вторичный ответ, чем равное количество клеток молодых животных.
2. Общее количество клеток первичной иммунологической памяти (т. е. после первого введения антигена) на всю селезенку у старых животных, по-видимому, несколько снижено, хотя и приближается к наблюдаемому у молодых.
3. Примирование доноров меньшей дозой антигена дает более выраженные возрастные различия во вторичном ответе в культуре *in vivo*.
4. Максимум антителообразования при вторичном ответе в культуре *in vivo* наблюдается на седьмой день после переноса клеток, независимо от возраста доноров переносимых клеток.

Литература

1. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. — Л.: Госмедиздат, 1962. — 180 с.
2. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медикобиологических исследованиях. Л.: Медицина, 1973. — 141 с.
3. Ехнева Т. Л. Особенности выработки антител в онтогенезе. — Материалы IX научной конференции по возрастной морфологии, физиологии, биохимии. Т. 2, ч. I, Москва, 1969, с. 246—247.
4. Ехнева Т. Л. Возрастные особенности иммунного ответа крыс при многократном введении различных доз бараньих эритроцитов. — Бюл. эксперим. биол. и мед., 1976, 81, № 5, с. 572—574.

5. Халатян Н. А., Пинегин Б. В. Кинетика формирования у мышей иммунологической памяти в системе сингенного переноса.—ЖМЭИ, 1973, № 11, с. 67—71.
6. Adler W. H. Aging and immune function.—Bio Science, 1975, 25, N 10, p. 652—657.
7. Araneo B. A., Marrack Ph. C., Kappler J. W. Functional heterogeneity among the T-derived lymphocytes of the mouse. VI. Memory T cells stored in the T₂ subpopulation.—J. Immunol., 1976, 117, N 6, p. 2131—2136.
8. Beneke G., Emmerling P., Finger H. e. a. Die Kinetik der primären Immunantwort bei der Maus in Abhängigkeit vom Lebensalter.—Ztschr. f. Gerontologie, 1974, 7, N 1, S. 12—45.
9. Dresser D. W., Wortis H. H. Use of an antiglobulin serum to detect cells producing antibody with low haemolytic efficiency.—Nature, 1965, 208, p. 859—861.
10. Feldbush T. L., Van der Hoven A. Antigen modulation of the immune response. IV. Selective triggering of antibody production and memory cell proliferation.—Cell. Immunol., 1976, 25, N 2, p. 152—162.
11. Finger H., Beneke G., Emmerling P. e. a. Secondary antibody-forming potential of aged mice, with special reference to the influence of adjuvant on priming.—Gerontologia, 1972, 18, p. 77—95.
12. Finger H., Emmerling P. Das Immunopotential als Funktion des Lebensalters.—Actuelle Gerontologie, 1973, 3, N 1, S. 5—23.
13. Finger H., Emmerling P. Duration of immunological memory in mice primed at different ages.—Gerontologia, 1973, 19, N 1, p. 22—30.
14. Jaroslow B. N., Suhrbier K. M., Fritz T. E. Relative enhancement of antibody-forming capacity in aging dogs.—The Gerontologist, 1973, 13, N 3, part II, p. 46.
15. Jerne N. K., Nordin A. A., Plaque formation in agar by single antibody-producing cells.—Science, 1963, 140, N 3565, p. 405.
16. Kishimoto S., Takahama T., Mizumachi H. In vitro immune response to the 2, 4, 6-trinitrophenyl determinant in aged C57BL/6J mice: changes in the humoral immune response to avidity for the TNP determinant and responsiveness to LPS effect with aging.—J. Immunol., 1976, 116, N 2, p. 294—300.
17. Klaus G. G. B., Willcox H. N. A. B cell tolerance induced by polymeric antigens. III. Dissociation of antibody formation and memory generation in tolerant mice.—Europ. J. Immunol., 1975, 5, N 10, p. 699—704.
18. L'Age-Stehr J., Herzenberg L. A. Immunological memory in mice. I. Physical separation and partial characterization of memory cells for different immunoglobulin classes from each other and from antibody-produced cells.—J. Exp. Med., 1970, 131, N 6, p. 1093—1108.
19. Makinodan T., Adler W. H. Effect of aging on differentiation and proliferation potentials of cells of the immune system.—Federation Proc., 1975, 34, N 2, p. 153—158.
20. Nordin A., Makinodan T. Humoral immunity in aging.—Federation Proc., 1974, 33, N 9, p. 2033—2035.
21. Rittenberg M. B., Pratt K. L. Antitrinitrophenyl (TNP) plaque assay. Primary response of Balb/c mice to soluble and particulate immunogen.—Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1969, 132, N 2, p. 575—581.
22. Stoltzner G., Makinodan T. Age-dependent decline in proliferation of lymphocytes.—In: Adv. in Exp. Med., Biol., Explorations in aging., N. Y.—Lond.: Plenum Press, 1975, 61, p. 21—37.
23. Williamson A. R., Askonas B. A. Senescence of antibody-forming cell clone.—Nature, 1972, 238, N 5363, p. 337—339.
24. Wilson J. D. The functions of immune T and B rosette-forming cells.—Immunology, 1973, 25, p. 185—196.

Институт геронтологии АМН СССР, Киев

Поступила в редакцию
6.V 1978 г.

T. L. Ekhnova

IMMUNOLOGICAL MEMORY IN ANIMALS OF DIFFERENT AGE

Summary

Memory cells of CBA mice were studied using the model of adoptive transfer. It is revealed that the secondary response of the spleen cells of old primed donors is lower as compared with that of the same number of cells taken from young donors. The total number of cells of primary immunological memory (i.e. following single antigen administration) per the whole spleen of old animals was obviously somewhat decreased. Priming of donors with a smaller dose of antigen results in a more pronounced age-related differences in the secondary in vivo response. Maximal antibody production in the adoptive transfer system was observed on the 7th day following the cell transfer, regardless of donors' age.

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

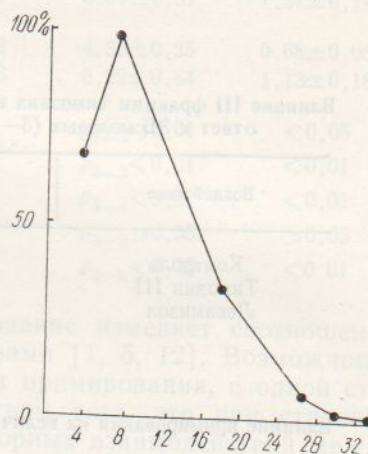
Опыты ставили на мышах линии СВА из питомника АМН СССР. Животных получали в возрасте 2—3 мес и затем содержали в условиях вивария института до достижения ими старости. В настоящем эксперименте использованы животные в возрасте от 3 до 34 месяцев. Уровень гуморального иммунного ответа определяли по количеству 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 *СВА* 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 *СВА* 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 *СВА* 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 настоятельной необходимостью 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 supressor 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), levamisol, 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 plague-forming response to SRBC and GvH reaction. Levamisol 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

УДК 546.9.576.8.097.2

В. А. Адо

МОДЕЛИРОВАНИЕ ХИМИЧЕСКИХ АЛЛЕРГОЗОВ, ИХ ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЕ УГНЕТЕНИЕ, ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ, ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ПАМЯТЬ

В последнее время наблюдается все более широкое распространение аллергических реакций и заболеваний, связанных с процессами сенсибилизации низкомолекулярными химическими веществами [1]. В связи с этим понятна актуальность изучения механизмов сенсибилизации указанными веществами, разработки способов предупреждения и угнетения таких аллергических реакций и заболеваний [5]. Интерес к этой проблеме вызван и тем, что в настоящее время синтезируется огромное количество самых разных химических соединений — лекарственных, лаков, красок, предметов бытовой химии, пестицидов, гербицидов, удобрений, косметических агентов, моющих средств, пластических масс и др. Участились сообщения о развитии аллергических реакций к металлам и металлоидам [3, 8—10]. Вопросы же специфической избирательной, точно направленной ингибиции состояний гиперчувствительности данного типа, индукции статусов иммунологической нечувствительности только начинают разрабатываться в эксперименте; более полно изучены как в экспериментальном, так и в клиническом плане механизмы неспецифической ингибиции иммунологической реактивности организма.

Методика исследований

Мы изучали возможность сенсибилизации экспериментальных животных — морских свинок (128), иранских хомячков (96) и кроликов (47) — такими химическими аллергенами, как 2,4-динитрохлорбензол (ДХНБ) — I, пикрилхлорид, динитрохлорбензол; соединения мышьяка: новарсенол, сальварсан, миарсенол, осарсол (II); конъюгаты — динитрофенол+бычий гамма-глобулин ($DNP+BGG$) и динитрофенол+бычий фибриноген ($DNP+BF$) (III); пикрированные конъюгаты (ПК: $DNP+BF$) нативные и денатурированные белки (IV); бихромат калия, азотнокислый кобальт, хлористый никель (V). Сенсибилизацию животных ДХНБ осуществляли по [12], сенсибилизацию соединениями мышьяка [14] по [13], соединениями группы III по [15], группы IV — по [7]. Сенсибилизацию веществами группы V проводили по [9] в нашей модификации [2]; химический аллерген вводили в ткань ушной раковины животных на полном проводнике Фрейнда, оливковом масле, твин-20, твин-80, *span* и в различных органических растворителях. Одновременно и параллельно (стадии сенсибилизации) проводили контрольные опыты с физиологическим раствором и бидистиллированной водой. Тестирование подопытных животных осуществляли на 7, 14, 21, 29, 35, 100 и 180 сут от начала сенсибилизации (через 6—24 ч регистрировали индуцированные реакции повышенной чувствительности).

Для изучения возможности образования перекрестной сенсибилизации животных сенсибилизировали одним химическим аллергеном (или конъюгатом), а разрешали другим — родственным или неидентичным.

Для изучения возможности избирательного специфического угнетения контактных кожно-аллергических реакций (ККАР) избрали метод внутривенного депонирования первичного сенсибилизатора (аллергена, лиганда конъюгата или компаунда) в различных буферных смесях (твин-80) и оливковом масле в различные сроки до тестирования:

от 168 до 6 ч. Аллергены инъецировали внутривенно в дозах от 3—5 мкг (низкомолекулярные сенсibilизаторы) до 500—1500—3000 мкг (конъюгаты). ККАР регистрировали с помощью иммуноморфологических и иммуногистохимических методов.

Изучали также возможность индуцирования статуса так называемой иммунологической толерантности (нечувствительности) у животных к указанным химическим аллергенам путем их депонирования внутрибрюшинно в твин-20, твин-80 и оливковом масле. Внутрибрюшинные инъекции проводили за 1, 2, 3, 5, 7 и 9 мес до сенсibilизации, тестирование — через 7, 14, 24 и 180 сут от ее начала. Регистрацию ККАР осуществляли с помощью как общепринятых методик, так и иммуноморфологических и иммуногистохимических методов, использовали гистологические (с окраской по Романовскому — Гимза, Ван-Гизону, азури-2-эозином) и гистохимические (с окраской бромфеноловым синим, по Фельгену, Браше, Маллори, Гейденгайну, Пинкусу, Пирсу, Эйнарсону, Массону, Унну — Паппенгейму, Вейгерту, Бернет — Зелигману, Бэрстону — Сабатини, Браун — Фалко, Гессу, Петцольду, Максиму, Селье и др.) методы исследования [3] биопсированных участков кожи, вовлеченных в процесс специфической альтерации; предварительно животных умерщвляли ударом по голове и обескровливали вскрытием каротидных артерий. Биоптаты кожи фиксировали в жидкости Карнуа и абсолютном спирте. С полученных гистологических препаратов (до 150—200 с каждого блока) после изучения их под микроскопом делали цветные микрофотографии (позитивная и негативная пленки фирм «Kodak», «Agfa», «Ogrosolog»), отпечатки и диапозитивы.

Мы изучали возможность неспецифической ингибции аллергических реакций: 1) алкилирующими агентами: проспидином, цитоксаном, новэмбитолом, Ли-102, Ли-103, фотрином, дипином, новэмбихином, триспиризидином, Ли-105, Ли-108, этиленмеламином, циклофосфамидом, эндоксаном, сарколизидом; 2) антиметаболитами: а) Ки-7, имураном; 6-меркаптопурином, 6-тиогуанином; 8-азагуанином, N⁶-аденозином и N⁶-пуринуклиозидом; б) 5-бромдезоксипурином, 6-азауридином, 5-фторурацилом, цитарабином, адамантоил-цитарабином (алексаном)-цитозин-арабинозидом; 3) венгерскими цитостатиками: винбластин, гидроксуреа, (гидреа), (биосупрессин), винкристином, колхицином; 4) ингибиторами клеточных ферментов: эпсилон-аминокапроновой кислотой, циклолейцином, этионином, тиенилаланином, N-диазоацетилглицинамидом; 5) антибиотиками-иммунодепрессантами: дактиномицином, хлорамфениколом, бумомидином, синтомицином, азасерином, антибиотиком 1719, бруннеомицином, блеомицином, рубомицином, оливомидином, карминомицином; 6) гормональными препаратами: деперзолоном, гумакидом-28, гумакидом-39; 7) антагонистами фолиевой кислоты: метотрексатом, аминоптерином, аметоптерином.

Мы изучали также возможность ингибирования химических аллергенов альфа-2-глобулиновой фракцией и конъюгатом — лигандом: Со (NO₃)₂+цистеин (диаколб).

Методики сенсibilизации, тестирования, регистрации и статистической обработки (метод вариационной статистики), в том числе на ЭВМ «Минск-32», описаны нами ранее [3].

Результаты исследований

Изучение возможности сенсibilизации животных различными химическими аллергенами (сенсibilизаторами) и конъюгатами показало, что наиболее сильными из них являются такие, как пикрилхлорид, 2,4-динитробензол, динитрофторбензол, динитрофлюоробензол. При сенсibilизации и тестировании ими у животных возникают яркие, «классические» выраженные ККАР: визуально такие реакции регистрируются на 3,0 по [11]; бордово-красная папула 3—5 мм в диаметре, отечная, в центре иногда петехиальные геморрагии и очаги некроза. Иммуноморфологически выявлена густая инфильтрация подэпителиального слоя иммунокомпетентными мононуклеарными элементами, проникающими в эпителий и как бы «разъедающими» его, разрушающими, дезинтегрирующими; эпителий отечен, в нем многочисленные меж- и внутриклеточные вакуоли и в каждой — «пришлая» мононуклеарная клетка («спонгиоз» и «спонгиозитические глазки» [16]). Эпидермис отслоен. Сосуды глубоких слоев дермы окружены, а стенки инфильтрованы и разрушены такими же мононуклеарными элементами (так называемая мононуклеарная манжета). Менее демонстративна картина при сенсibilизации «средними» химическими сенсibilизаторами: препаратами из группы соединений мышьяка. Труднее воспроизвести в эксперименте аллергические реакции к так называемым

мым слабым химическим аллергенам: бихромату калия, азотнокислому кобальту, хлористому никелю, а также к соединениям золота и платины. Конъюгаты в этом смысле занимают промежуточное положение, временами приближаясь то к первой, то к последней группе сенсibilизаторов, что зависит, вероятно, от ряда причин — дозировки конъюгатов, pH-среды, качества и объема буфера, способа введения, характе-



Рис. 1. Кожа морской свинки. Химический аллергоз — экспериментальная аллергическая реакция, вызванная соединениями платины. Замедленная аллергическая реакция. Фиксирована густая инфильтрация подэпителиального слоя дермы мононуклеарными клеточными элементами, отек эпителия и спонгиоз его, десквамация эпидермиса. Контроль. Окраска азур-2-эозином. $\times 280$.

ристики белка-носителя и др. Попытка изучения возможности индукции аллергических реакций перекрестного типа показала, что они возникают только между родственными (но не идентичными) химическими аллергенами (например, новарсенолом, с одной стороны, и сальварсаном, осарсолом, миарсенолом — с другой). Между неродственными и неидентичными сенсibilизаторами перекрестные аллергические реакции не возникают, что может служить соответствующим контролем [3]. Изучение возможности специфического, избирательного подавления аллергических реакций показало, что оно может наблюдаться при внутривенном депонировании химического сенсibilизатора в различных буферных смесях; при этом чем меньше срок между таким гипосенсibilизирующим влиянием и манипуляцией с тестированием, тем ярче процесс избирательной ингибиции; в контроле же вливание неродственного (и неидентичного) сенсibilизатора не вызывало ингибиции такой ККАР. При ингибирующем вливании за более длительный срок до тестирования ингибиция не возникала, либо была незначительной. Попытка получения аналогичного феномена с так называемыми слабыми химическими аллергенами также увенчалась успехом, но толерогенная доза разительно отличалась — была увеличена [4, 6], что стимулировало, очевидно, процессы индукции иммунологической памяти.

Исследования по воспроизведению феномена иммунологической «толерантности» к различным химическим аллергенам и конъюгатам показали, что таковой индуцируется наиболее ярко и полно в том случае (до 140—150 сут), если промежуток времени между толерогенной процедурой (внутрибрюшинное депонирование) и циклами сенсибилизации сокращается до 30—45 сут. В эксперименте нам удалось

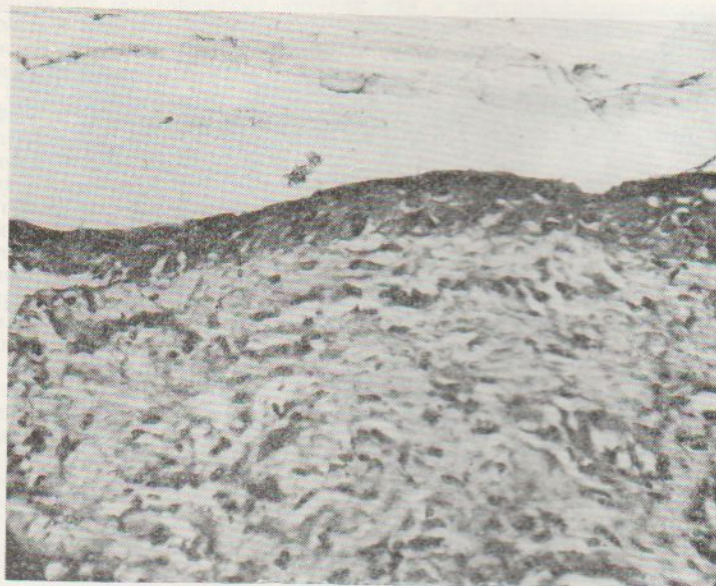


Рис. 2. Кожа морской свинки с экспериментальным платинозом. На 21 сут от начала сенсибилизации в течение 20 сут, три раза в неделю зону специфической аллергической альтерации апплицировали 3% раствором иммунодепрессанта проспидина. Фиксирована картина выраженной иммуносупрессии контактной аллергической реакции, индуцированной соединениями платины: отсутствует инфильтрация подэпителиального слоя мононуклеарными клеточными элементами, нет десквамации эпидермиса, имеются лишь отдельные незначительные участки слегка отека эпителия и остаточные явления спонгиоза эпителия.

Окраска по Гейденгайну. $\times 280$.

также воспроизвести аналогичное явление при сенсибилизации «слабыми» химическими аллергенами; однако величины депонированных толерогенных доз значительно отличались от наблюдаемых при применении «сильных» и «средних» сенсибилизаторов. Феномен такой иммунологической инертности при манипуляциях с «сильными» сенсибилизаторами был устойчив (до 72 ч и более), с конъюгатами — до 96—120 ч, с соединениями мышьяка — до нескольких недель, месяцев и даже лет [3], что весьма важно в плане лечения и предупреждения химических аллергозов и лекарственной аллергии.

При изучении возможности угнетения аллергических реакций неспецифическими способами в наших экспериментах наиболее эффективными были отечественные иммунодепрессанты Ки-7; цитостатики Ли-102, Ли-103, Ли-105, Ли-108 оказались токсичными; алкилирующий агент проспидин наиболее активно угнетал замедленную аллергию, алексан — немедленную аллергию; отечественный антибиотик-иммунодепрессант дактиномицин (синтезированный в Институте антибиотиков АМН СССР) и венгерские цитостатики винбластин и винкристин (последние оказывают сильное побочное действие — токсич-

ны) обладали выраженными иммунодепрессивными свойствами. Необходимо специально подчеркнуть, что и в клинике химических аллергозов (выход в практику) мы успешно и целенаправленно использовали одни иммунодепрессанты — для лечения немедленной аллергии (цитозин-арабинозид-алексан, например), другие — замедленной (например, проспидин) их аппликациями на кожу и слизистые



Рис. 3. Кожа предплечья человека (аутопат) — крапивница. Химический сенсibilизатор — платина. В зону специфической аллергической альтерации инсулиновым шприцем введено 0,3 мл флуоресцирующей антигаммаглобулиновой сыворотки. На снимке фиксирован значительный отек в зоне специфической аллергической альтерации, яркое свечение зоны аллергического воспаления в свете боковых ультрафиолетовых лучей. Аллергическая реакция немедленного типа.

Контактный люминесцентный микроскоп КЛМ-1. Стандартные линзы 40×40.

полости рта (метод нами описан для клинического применения у человека [3—6]). Побочные реакции при этом нами не наблюдались.

Эпсилон-аминокапроновая кислота (по 500—100 мг три раза в неделю в течение 1—2 мес) не оказывала выраженного иммунодепрессивного действия: в некоторых случаях она интенсифицировала развитие феномена Артюса у кроликов. Немедленные аллергические реакции наиболее демонстративно ингибировались алексаном, имураном, Ки-7, винбластином, винкристином, дактиномицином; гидроксигидреа (гидреа) оказалась наименее токсичным препаратом, в то же время она оказывала весьма выраженное универсальное иммунодепрессивное действие (по-видимому, гидреа блокирует не только пролиферативную реактивность *T*-, *B*- и *A*-клеток, но и процессы кооперирования между ними и их функции). Ингибирующими свойствами обладала и альфа-глобулиновая фракция. Проспидин и препараты его группы ингибировали преимущественно замедленную аллергию (рис. 1—4). Полученные результаты уже сейчас служат свидетельством принципиальной возможности регуляции реакций иммунитета и аллергических процессов неспецифическими фармакологическими агентами (ингибиторами).

Обсуждение результатов исследований

Таким образом, целесообразно, по-видимому, подразделять все химические аллергены на «сильные», «слабые» и «средние». Вероятно, в принципе возможно развитие так называемых перекрестных аллергических реакций между родственными, но неидентичными химическими аллергенами.

В то же время избирательное, специфическое угнетение аллергических реакций, вызванных химическими аллергенами, возможно пу-



Рис. 4. Кожа предплечья человека. Крапивница. Платиновый аллергоз. Зона специфической аллергической альтерации. В зону данной аллергической реакции немедленного типа инсулиновым шприцем введено 0,9 мл флюоресцирующей антигаммаглобулиновой сыворотки. Через 3 мин после аппликации иммунодепрессанта алексана. Аппликация проспирина служила контролем. Фиксирована картина резкого иммуносупрессивного влияния алексана на развитие данного типа аллергической реакции.

КЛМ-1. 40×40.

тем внутривенного депонирования сенсibilизатора до тестирования. Внутривенное же депонирование химических аллергенов и конъюгатов — лигандов (в различных буферных смесях) индуцирует развитие феномена иммунологической «толерантности». Из химических препаратов выраженное иммунодепрессивное действие оказывали отечественные ингибиторы, проспирин, Ки-7, дактиномицин и венгерские — винбластин, винкристин, гидроксуреа (биосупрессин). Японский препарат блеомицин также оказался сильным иммунодепрессантом, как и карминомицин, однако последний токсичен. Алексан угнетал преимущественно немедленную аллергию.

Апробирование нами в последнее время некоторых специальных электро- и патофизиологических методик (электромио-, электроэнцефало-, электрокардио-, реовазография), использование контактной люминесцентной микроскопии, тепловидеографии, электронной (сканирующей, растровой) микроскопии, лазерных установок в комплексе с некоторыми аллергологическими методами (базофильные тесты,

МИФ-, РТПЛ-, РТМЛ- и РОК-тесты, тест специфической деструкции клеток-мишеней клетками-киллерами, тест лимфостимуляции по Лингу, Йерне-тесты) показали, что эти методы приемлемы для идентификации степени специфической и неспецифической ингибиции химических аллергозов.

Из биохимических и цитологических ценными в этом плане оказались методики регистрации нейтраминовой кислоты в сыворотке (по Гессу), а также определение количественного содержания меченых радиоактивными изотопами моноклеаров (лимфоцитов и тимоцитов) и нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) в органах центрального и периферического лимфоидного аппарата [1, 3, 4, 6].

Выводы

1. При моделировании химических аллергозов все сенсibilизаторы, по-видимому, целесообразно подразделять на «сильные», «средние» и «слабые».
2. Идентификация сенсibilизаторов и химических аллергозов наиболее эффективна при использовании некоторых высокоспецифических (МИФ-, РТМЛ-тест и др.) и инструментальных (сканирующая растровая электронная микроскопия, люминесцентные методы исследования) методик анализа.
3. Оптимальным представляется использование иммунодепрессантов, направленно (сепаратно) ингибирующих пролиферативную реактивность лимфоцитов *T*, либо лимфоцитов *B* (преимущественно), а также процессы кооперирования между клетками *T*, *B* и *A*.
4. В случае достоверного идентифицирования химического аллергена, «виновного» в индукции аллергического процесса, индукция процессов специфической гипосенсибилизации и иммунологической толерантности представляется наиболее оптимальным вариантом направленной ингибиции химических аллергозов.

Литература

1. Адо А. Д. Общая аллергология.— М., 1978.—557 с.
2. Адо В. А. Иммуносупрессия аллергозов.— Фармакол. и токсикол., 1972, № 1, с. 71—73.
3. Адо В. А. Химические аллергозы: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 1973.—45 с.
4. Адо В. А. Химическая аллергия.— М., 1978.—135 с.
5. Адо В. А., Горячкина Л. А. Подавление аллергических реакций низкомолекулярными соединениями.— Минск, 1971.—125 с.
6. Адо В. А., Горячкина Л. А. Профессиональная аллергия.— М., 1975.—125 с.
7. Медуницын Н. В. Замедленная аллергия к растворимым белкам: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1970.—300 с.
8. Рабен А. С., Алексеева О. Г., Дуева Л. А. Экспериментальный аллергический контактный дерматит.— М., 1970.—125 с.
9. Рабен А. С., Антоньев А. А. Профессиональные болезни кожи, вызываемые химическими веществами.— М., 1966.—300 с.
10. Сомов Б. А. и др. Лабораторные методы диагностики дерматозов. Тезисы докладов VI Всесоюз. съезда дермато-венерологов.— М., 1973, с. 313—314.
11. Cohen H. A. Chromium conjugates in inducing different types of allergic reactions.— *Isr. J. Med. Sci.*, 1966, 2, p. 37—51.
12. Frey J. R., De Weck A. L., Geleick H. On special inhibition of delayed contact skin-allergic reactions.— *Science*, 1964, 144, p. 853—871.
13. Landsteiner K., Chase M. W. Contact allergic reactions to simple chemical compounds.— *Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)*, 1942, 49, p. 688—699.
14. Parker D., Aoki T., Turk J. Specific hyposensibilization of delayed allergy.— *Int. Arch. Allergy*, 1970, 38, p. 42—56.

15. Siskind G. W., Benacerraf B., Payl W. E. Some abstracts on identification of delayed type of hypersensitivity.—J. Exp. Med., 1966, 123, p. 673—719.
16. Waksman B. H. Morphological picture of allergic reactions.—J. Exp. Med., 1960, 114, p. 997—1017.

Всесоюзный аллергологический
центр АМН СССР; Аллергологическая
лаборатория АМН СССР

Поступила в редакцию
24.VII 1978 г.

V. A. Ado

MODELLING OF CHEMICAL ALLERGOSES, THEIR SPECIFIC SELECTIVE AND NONSPECIFIC INHIBITION, IMMUNOLOGICAL TOLERANCE

Summary

The possibility of experimental modelling of chemical allergoses was studied. The available data testify to the possibility of specific and selective nonspecific inhibition of allergic reactions and chemical allergoses. The problems of immunological memory and immunological tolerance has been also discussed.

All-Union Allergic Centre,
Academy of Medical Sciences, USSR, Moscow

УДК 546.9:576.8.097.2

В. А. Томилец, В. И. Донцов, И. А. Захарова

АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ НЕМЕДЛЕННОГО И ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА К СОЕДИНЕНИЯМ МЕТАЛЛОВ VIII ГРУППЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Интерес к соединениям платины и палладия обусловлен все более широким использованием этих соединений в биологии и медицине в связи с обнаружением у них противобактериального [9], противовирусного [6], и, особенно, противоопухолевого действия [5, 10]. Однако, применение в клинике соединений платины в отдельных случаях сопровождалось выраженными аллергическими реакциями [8]. Было отмечено [2], что лица, имеющие производственные контакты с платиновыми солями, значительно чаще страдают дерматитами и бронхиальной астмой. По [2] у 60—70% лиц, контактирующих с соединениями платины, через 2—3 года появляются дерматиты, а через 5—10 лет у части больных — бронхиальная астма. По [4], до 46% рабочих, контактирующих с соединениями платины, дают положительные реакции на аппликационные пробы с солями платины. Все это подтверждает необходимость изучения механизмов сенсибилизации к соединениям платины в эксперименте для выявления препаратов, обладающих минимальным сенсибилизирующим действием.

Методика исследований

Исследования проведены на 40 морских свинках-альбиносах, весом 150—200 г. Сенсибилизацию осуществляли однократным внутрикожным введением в бессосудистую зону уха 0,2 мл 1% раствора комплексов Pt, Pd, Ni, Co . На 21 день на депилированной поверхности спины ставили внутрикожные пробы введением 0,05 мл $10^{-3} M$ раствора различных соединений исследуемых металлов в виде водного раствора самих солей или их растворов с белком (овальбумин). Реакцию оценивали по общепринятой методике в плюсах через 20 мин (реакции немедленного типа) и через 24 ч (реакции замедленного типа). Для количественного учета реакций плюсы были переведены в баллы, принимая один «+» за 1 балл, «+—» за 0,5, отсутствие реакции «—» за 0. О содержании реакинов крови судили по реакции пассивной кожной анафилаксии. Титр реакции определяли как последнее разведение сыворотки, еще дающее выход синьки Эванса при введении сыворотки от сенсибилизированных животных; антигеном служили растворы соединений с альбумином: 0,5 мл 0,05% раствора овальбумина, содержащего соли платины (K_2PtCl_4) в соотношении 1:100. Для оценки гиперчувствительности замедленного типа ставили реакцию торможения миграции лейкоцитов по [1]. Результаты подвергались статистической обработке с вычислением критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

Реакции немедленного типа. У всех сенсибилизированных животных через 20 мин на месте внутрикожных проб отмечалось появление волдыря, достигающего в ряде случаев 4 баллов, что говорит о выраженной сенсибилизации, достигаемой этими соединениями. Из табл. 1 видно, что максимальная реакция достигается на введение комплекса овальбумина с солью металла при отсутствии реакции на сам оваль-

Кожные реакции немедленного типа при

№ группы	Сенсибилизация	Внутрикожная			
		K ₂ PtCl ₄	PtX ₂	K ₂ PtCl ₆	K ₂ PdCl ₄
1	Интактные	0	0	0	0
2	K ₂ PtCl ₄	3,0±0,21	1,0±0,29	0,4±0,16	0,9±0,38
3	PtX ₂	0,6±0,12	1,8±0,14	0,3±0,2	0
4	K ₂ PtCl ₆	0,6±0,22	0	2,5±0,17	0
5	K ₂ PdCl ₄	1,5±0,42	0	1,1±0,41	1,8±0,34
6	PdX ₂	0	0	0	1,1±0,24
7	CoX ₂	0,5±0,28	0,8±0,48	0,8±0,23	0
8	NiX ₂	1,5±0,65	2,0±0,41	1,1±0,31	1,2±0,48

Примечание. X—5-сульфо-8-меркаптохинолинат, ОА—овальбумин, химически связанный

бумин и гораздо меньшей реакцией на саму соль. Это совпадает с данными литературы о необходимости высокомолекулярного носителя для проявления аллергических реакций [3], тогда как один гаптен, вследствие малого молекулярного веса, вызывает чаще реакцию задержки при кожных пробах в реакции пассивной кожной анафилаксии. Реакцию на одну соль тогда следует рассматривать как результат формирования аутоносителя в организме вследствие быстрого соединения солей металла с белками кожи. В литературе имеются указания на высокое сродство соединений платины к белкам организма [7]. Успех примененного для сенсибилизации метода внутрикожного введения одного гаптена также может быть объяснен лишь формированием аутоантигена в организме при контакте с солями металлов VIII группы, так как сами по себе соли являются гаптенами и вследствие малого молекулярного веса не могут вызывать иммунного ответа.

Положительные реакции к солям некоторых других металлов VIII группы свидетельствуют о наличии перекрестной чувствительности между ними. Комплексы металлов с 5-сульфо-8-меркаптохинолинатом в качестве лиганда обладают меньшей сенсибилизирующей активностью, что, по всей вероятности, обусловлено большей прочностью связей центрального атома металла в комплексной соли с лигандом.

Таблица 2

Реакции замедленного типа при сенсибилизации солями металлов VIII группы

№	Сенсибилизация	Внутрикожная проба				
		K ₂ PtCl ₄	PtX ₂	K ₂ PtCl ₆	K ₂ PdCl ₄	PdX ₂
1	Интактные	0	0	0	0	0
2	K ₂ PtCl ₄	2,8±0,68**	1,4±0,38*	0	0,25±0,13	0,9±0,38*
3	PtX ₂	1,1±0,54*	2,3±0,48**	1,5±0,29**	0,75±0,23*	1,5±0,29**
4	K ₂ PdCl ₄	2,5±0,23**	2,5±0,12	1,4±0,24**	0,75±0,22*	1,7±0,24**
5	K ₂ PtCl ₆	1,5±0,58**	0	2,8±0,68**	0	1,3±0,34**
6	PdX ₂	1,5±0,29**	1,25±0,42*	1,0±0,42*	1,4±0,38**	2,4±0,29**

Примечание: *— $p < 0,05$ по сравнению с интактными, **— $p < 0,01$, X—5-сульфо-8-меркаптохинолинат.

Таблица 1

сенсibilизации солями VIII группы ($M \pm m$)

проба					
PdX ₂	CoX ₂	NiX ₂	OA+K ₂ PtCl ₄	OA+K ₂ PtCl ₆	OA+K ₂ PdCl ₄
0	0	0	0	0	0
0,5±0,33	0,3±0,1	1,0±0,38	4,0±0	1,5±0,58	2,4±0,45
2,0±0,13	1,0±0,15	2,0±0,40	2,5±0,27	1,2±0,13	1,4±0,40
0	0	0	0,5±0,1	3,2±0,37	1,2±0,37
1,0±0,70	0,7±0,14	1,0±0,32	1,8±0,44	1,2±0,50	1,9±0,24
1,0±0,21	0	0	0,7±0,24	0,6±0,22	1,5±0,42
1,2±0,58	2,8±0,18	1,0±0,47	3,0±0,24	1,0±0,41	1,8±0,37
0,8±0,32	1,7±0,25	1,8±0,48	2,8±0,32	0	2,9±0,48

с солью.

Таблица 3

Индекс миграции лейкоцитов у морских свинок, сенсibilизированных солями металлов VIII группы

№	Сенсibilизация	Разрешающий антиген	Индекс миграции, в % ($M \pm m$)
I	Интakтные	Контроль	100,0±4,4
		K ₂ PtCl ₄	93,4±4,8*
		K ₂ PtCl ₆	92,0±4,8*
		K ₂ PdCl ₄	92,1±4,4*
		Pt(NH ₃) ₂ Cl ₂ —ц	89,1±7,1*
		CoX ₂	90,7±5,4*
		NiX ₂	93,4±4,1*
II	K ₂ PtCl ₄	K ₂ PtCl ₄	52,3±8,0
		K ₂ PtCl ₆	70,3±6,7
		K ₂ PdCl ₄	72,3±4,0
		Pt(NH ₃) ₂ Cl ₂ —ц	96,3±6,6*
		CoX ₂	87,0±9,8
		NiX ₂	52,0±5,1
III	K ₂ PdCl ₄	K ₂ PtCl ₄	84,1±6,6
		K ₂ PtCl ₆	28,3±3,0
		K ₂ PdCl ₄	45,6±6,4
		Pt(NH ₃) ₂ Cl ₂ —ц	101,2±3,1*
		CoX ₂	82,7±4,5
		NiX ₂	55,5±4,8
IV	Pt(NH ₃) ₂ Cl ₂ —ц	K ₂ PtCl ₄	29,0±5,6
		K ₂ PtCl ₆	34,0±4,8
		K ₂ PdCl ₄	40,0±8,4
		Pt(NH ₃) ₂ Cl ₂ —ц	10,3±3,4
		CoX ₂	53,3±6,0
		NiX ₂	60,2±7,0

Примечание. *— $p > 0,05$. Для остальных $p < 0,01$.

В реакции пассивной кожной анафилаксии нами были обнаружены реактивные антитела к полному антигену: овалбумин, обработанный K_2PtCl_4 дал титр реакции 1:64. Реакция на один гаптен была отрицательной, что согласуется с данными литературы о невозможности проявления реакции пассивной кожной анафилаксии на одни гаптены [3].

Реакции замедленного типа. При оценке проб через 24 ч у всех животных отмечено появление специфического инфильтрата, не обнаруживаемого в контроле у интактных животных. Инфильтрат был максимально выражен при введении той же соли, которая была использована и для сенсibilизации, однако, наблюдалась реакция и на введение других соединений исследуемых металлов (табл. 2), что указывает на явление перекрестной гиперчувствительности к этим соединениям.

Данные внутрикожных проб коррелировали с результатами исследования реакций миграции лейкоцитов. Как известно, эта реакция основана на выделении сенсibilизированными Т-лимфоцитами фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов (МИФ) и хорошо коррелирует с выраженностью гиперчувствительности замедленного типа [1.] Приняв за 100% количество вышедших из капилляров лейкоцитов в контроле, мы вычисляли индекс миграции лейкоцитов в присутствии 10^{-6} М различных солей металлов VIII группы как отношение вышедших клеток в опыте к количеству вышедших клеток в контроле. Для интактных животных не наблюдалось достоверного снижения индекса миграции лейкоцитов, тогда как введение специфического соединения снижало индекс миграции лейкоцитов на 48—90% (табл. 3). Введение солей того же металла, но с другим лигандом, вызывало менее интенсивное снижение индекса миграции. Еще менее интенсивное снижение индекса миграции отмечалось для солей других металлов этой же группы на 50—90%. Наличие торможения миграции соединений различных металлов VIII группы также подтверждает перекрестную гиперчувствительность к ним.

Выводы

1. Аллергические реакции к соединениям металлов VIII группы развиваются как по немедленному, так и по замедленному типу.

2. Внутрикожные методы сенсibilизации сопровождаются формированием аутоносителя в самом организме, вследствие соединения гаптена с белками кожи.

3. Между соединениями металлов VIII группы — *Pt, Pd, Ni, Co*, существует перекрестная чувствительность, что справедливо как для реакций немедленного, так и для реакций замедленного типа.

Литература

1. Новиков Д. К., Адаменко Г. П., Новикова В. И. Реакция подавления миграции лейкоцитов для выявления клеточно-опосредованной аллергии. Лабор. дело, 1977, № 9, с. 343—346.
2. Парро Ж., Эбер Р., Сэндел А., Руфф Ф. Платина и платиноз.— В кн.: Проблемы иммунологической реактивности и аллергии, М., 1971, с. 198—200.
3. Рабен А. С., Алексеева О. Г., Дуева Л. А. Экспериментальный аллергический контактный дерматит: М., 1970. 192 с.
4. Сарова М. А. Аллергические поражения при платинозе.— В кн.: Вопросы аллергии. Тез. докл. на IV республиканской конференции. Каунас, 1976, с. 199—200.
5. Cleare M., Hoeschele J. Anti-tumour platinum compounds.— Platinum metals review, 1973, 17, N 1, p. 2—14.

6. Drobnik J. Antitumor activity of heavy transition metal's complexes «against hepatoma cells».—Chem. Biol. Interact., 1975, 11, p. 605—609.
7. Hörer O. Nicolau C. Spectroscopic evidence for cis-PtCl₂ (NH₃)₂ — erythrocyte membrane interaction.—F. E. B. S. letters, 1971, 14, p. 262—264.
8. Khan A. Hill J. M. Grater W. Loeb E. Maclellan A. Hill N. Atopic Hypersensitivity to cis-dichlorodiaminoplatinum (II) and other platinum complexes.—Cancer Res., 1975, 35, p. 2766—2773.
9. Rosenberg B. Some Biological Effects of platinum complexes.—Nature, 1969, 222, 385—410.
10. Rosenberg B. Platinum coordination complexes in cancer chemotherapy.—Naturwissenschaften, 1973, 60, p. 399—406.

Аллергологическая лаборатория
АМН СССР

Поступила в редакцию
21.IX 1978 г.

V. A. Tomilets, V. I. Dontsov, I. A. Zakharova

IMMEDIATE AND DELAYED ALLERGIC REACTIONS TO GROUP VIII METALS SALTS IN THE EXPERIMENT

Summary

Formation of immediate and delayed allergic reactions to Pt and Pd salts in the experiment was shown using the methods of intracutaneous tests with 20 min and 24h estimation, the reaction of passive cutaneous anaphylaxis and the reaction of leukocyte migration inhibition. Cross reactions are observed to compounds of the group VIII metals studied.

Allergologic Laboratory,
Academy of Medical Sciences, USSR, Moscow

УДК 616.056.3.001.6:616.24

Н. М. Бережная, В. Г. Бордонос,
Л. А. Куюн, Л. В. Яхимович

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ

В последние годы наметилось оживление исследований в области экспериментального моделирования патологии аллергического генеза. Так, получены модели экспериментальной астмы [5], реактивной гиперчувствительности аллергического бронхоспазма у собак [7]. Разработана модель поллинозов у морских свинок путем аэрозольной сенсibilизации экстрактом пыльцы амброзии [1]. Параллельно идет активный поиск моделей, в основе которых лежит замедленная гиперчувствительность, развивающаяся в ответ на введение микробных антигенов и антигенов другой природы. В этом плане значительный интерес представляет модель аллергического пневмонита, полученного с помощью *M. faeni* [13, 14]. Однако, пока имеется ограниченное число работ, в которых оценка модели проводилась бы на основе комплексного иммунологического и морфологического исследований в динамике развития аллергии.

Нами представлены данные по моделированию аллергического поражения легких в экспериментах, которые по возможности, приближали бы эту модель к условиям развития аллергических заболеваний легких у человека. Для этого был избран принцип многократного воздействия на экспериментальных животных сравнительно небольшого количества аллергена. Характеристика иммунологических процессов отражала состояние клеточного и гуморального иммунитета, а также выраженность сенсibilизации определялась по замедленному и немедленному типу.

Методика исследований

Опыты проведены на 60 (40 опытных и 20 контрольных) беспородных морских свинок весом 350—450 г. Животным пятикратно подкожно вводили по 10 мкг овальбумина (ОА) с интервалом семь дней между инъекциями антигена. После четырехнедельного перерыва сенсibilизированным животным в специальной камере проводили многократные ингаляции овальбумина, растворенного в физиологическом растворе (всего проведено 18—20 ингаляций, доза ОА 2 мкг на животное, время ингаляции 20—30 мин).

Для иммунологических исследований определяли а) содержание *T*-[12] и *B*-розеткообразующих клеток [11] периферической крови (абсолютное число и %); б) титр антител к овальбумину; в) индекс торможения миграции бронхо-альвеолярных клеток в присутствии специфического антигена [8, 9]; г) проводили кожные пробы с овальбумином по немедленному и замедленному типу. Статистическая обработка данных осуществлялась по [4].

Для морфологических исследований препараты легких окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону. Исследования проводили в динамике (до начала опыта, после иммунизации, через 3,6,10 нед ингаляции, а также спустя три месяца после последней ингаляции — по 10—12 морских свинок на каждый срок). Полученные данные обрабатывались статистически по [2].

Результаты исследований

Результаты исследований показывают, что в процессе моделирования происходят значительные изменения в морфологической картине легких и иммунологическом статусе подопытных животных.

Как видно из таблицы, иммунизация морских свинок столь малыми дозами антигена не приводит к существенному изменению количества *T*- и *B*-розеткообразующих клеток. В этот период в сыворотке определялись антитела к овальбумину в достаточно высоких титрах. Внутривенное введение антигена сопровождалось интенсивной реакцией по немедленному типу при отсутствии реакции замедленного типа. Исследование сенсибилизации методом *in vitro* — торможение миграции бронхо-альвеолярных клеток подопытных животных показало недостаточную степень сенсибилизации после иммунизации (индекс миграции — 0,89). После ингаляции в течение трех недель достоверно увеличивается число *B*- и *T*-розеткообразующих клеток; титры антител к овальбумину несколько снижаются (см. таблицу). Выраженность кожной реакции немедленного типа снижается. Параллельно с этим отмечается развитие кожной реакции по замедленному типу. Реакцией торможения миграции отмечается возрастание степени сенсибилизации (индекс миграции уменьшается). После шести недель ингаляции число *B*- и *T*-розеток остается повышенным. Титры антител против овальбумина в этот период все еще достаточно высоки (см. таблицу). Кожные пробы показали усиление выраженности реакций замедленного типа, в то время как реакции немедленного типа продолжают уменьшаться. В реакции торможения миграции изменений не наблюдалось. После десяти недель ингаляции число *T*- и *B*-розеткообразующих клеток остается высоким по сравнению с исходными цифрами. При этом титры антител против овальбумина значительно снижаются. Специфическая сенсибилизация по клеточному типу уве-

Динамика иммунологических показателей у морских свинок при моделировании экспериментального поражения легких

Сроки обследования	<i>B</i> -РОК		<i>T</i> -РОК		Титры АТ против овальбумина	Сенсибилизация		
	%	абсолютное число	%	абсолютное число		Индекс торможения миграции бронхо-альвеолярных клеток	кожные пробы немедленного типа	кожные пробы замедленного типа
До начала опыта	32	1885	42	2563	не обнаружены	1,003	отрицательная реакция	отрицательная реакция
После иммунизации	30	1922	43,5	2605	1,2	0,89	2,6	отрицательная реакция
Через 3 нед ингаляции	38	2510 $p=0,01$	49 $p=0,005$	3657	0,98	0,82	1,5	1,1
Через 6 нед ингаляции	33	2812 $p=0,005$	45,2 $p=0,001$	3664	0,93	0,815 $p=0,001$	1,2	3,0
Через 10 нед ингаляции	34,3	2580 $p=0,05$	49 $p=0,001$	3754	0,73	0,78 $p=0,001$	1,75	3,2
Спустя 3 мес после последней ингаляции	43	2770 $p=0,001$	68,6 $p=0,001$	4220	не обнаружены	0,48 $p=0,001$	отрицательная реакция	2,7

личивается, что подтверждается результатами реакции торможения миграции. Через три месяца после окончания ингаляции число розеток, образованных *B*-лимфоцитами, оставалось по-прежнему высоким, в то время как (с высокой достоверностью) увеличилось число розеток, образованных *T*-лимфоцитами как в процентном выражении, так и по абсолютному количеству клеток. Титры антител в овальбумину не

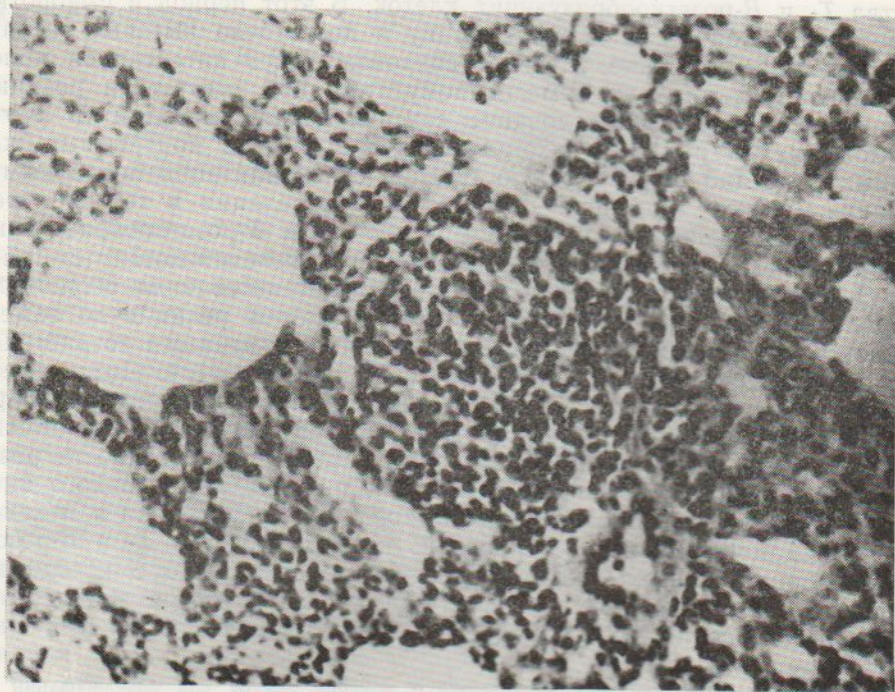


Рис. 1. Легкое морской свинки (3 нед ингаляции).

Слушивание эпителия в просвет бронхов. Гипертрофия мышечного слоя артериол. Окраска гематоксилин-эозином. 10×10 .

выявлены. В ответ на внутрикожные пробы отмечалось отсутствие реакции немедленного типа при достаточно высокой реакции замедленного типа. Результаты реакции торможения миграции свидетельствуют о нарастании сенсibilизации клеточного типа — определен очень малый индекс миграции.

При морфологическом изучении препаратов легких учитывали изменения межальвеолярных перегородок, стенок бронхов мелкого и крупного калибров и состояние сосудов. Данные морфологических исследований могут быть суммированы следующим образом. При иммунизации в ткани легкого наблюдалась гиперплазия перибронхиальных лимфоидных фолликулов, некоторое накопление иммунокомпетентных клеток в стенках альвеол, появление периваскулярных инфильтратов, состоящих из плазмочитарно-лимфоцитарных элементов. Через 3—4 нед ингаляции стенки альвеол утолщены вследствие инфильтрации клетками, в которой преобладают гистио-лимфоцитарные элементы, плазматические клетки, а также клетки моноцитарно-макрофагального порядка. В просветах альвеол накопление экссудата. В отдельных участках эмфизематозные поражения. Для изменений бронхов на этом этапе процесса характерно обширное слушивание эпителия (местами с обрывом пластов в просвет). В других бронхиолах виден регенери-

рующий сочный эпителий. Стенки бронхов инфильтрированы моноцитами, лимфоидными и плазматическими клетками; в стенках бронхиол часто видны гипертрофии мышечного слоя, гиперплазия перибронхиальных лимфоидных фолликулов. В сосудах легких обнаружены застойные явления, в артериолах — гипертрофия мышечных элементов. Отмечаются небольшие периваскулярные инфильтраты, периваскуляр-



Рис. 2. Легкое морской свинки (6 нед ингаляции).
Инфильтрация межалвеолярных перегородок моноцитами и гиперплазия перибронхиального лимфоидного фолликула. Окраска гематоксилин-эозином. 10×10 .

ная соединительная ткань разрыхлена и отечна. Перечисленные изменения дают основание говорить о развитии острого аллергического бронхопневмонита (рис. 1).

Через шесть недель ингаляции в легких интенсивно нарастает продуктивный компонент, отмечаются более обширные эмфизематозно измененные участки; встречаются отдельные очаги некроза. По периферии его много эпителиоидных и гигантских клеток, инфильтрация межалвеолярных перегородок с преобладанием мононуклеаров. В бронхах крупного калибра слущивание эпителия, в бронхиолах регенераторные процессы. Мышечные элементы бронхиол иногда гипертрофированы, в других участках, наоборот, тонус их потерян и формируются небольшие бронхоэктазы. Сосуды полнокровны, стенки сосудов инфильтрированы лимфоцитами, наблюдается гипертрофия мышечного слоя мелких артерий. Вокруг сосудов везде отмечается периваскулярная реакция (преимущественно из лимфоцитов, гистиоцитов и плазматических клеток). Морфологические изменения на этом этапе дают основание говорить о дальнейшем прогрессировании интерстициальной пневмонии с васкулитом в системе легочной артерии (рис. 2).

Продолжение ингаляции (8 нед) приводит к дальнейшему прогрессированию интерстициальной пневмонии. Инфильтрация становит-

ся настолько выраженной, что во многих местах исчезает просвет альвеол. В отдельных участках в просветах скопление макрофагов, а также эпителиоидных клеток. В эпителии крупных бронхов преобладают регенераторные процессы, стенки их инфильтрированы плазматическими клетками; многочисленные бронхоэктазы, в которых мышечный слой вытесняется разрастающимся фиброзным каркасом. Сосуды застойны с явлениями васкулита и периваскулита; в артериях различных калибров гипертрофия мышечного слоя. В стенках альвеол увеличение количества коллагеновых волокон.

На 9—10 нед ингаляции в морфологической картине легких к явлениям интерстициальной пневмонии присоединяются острые нарушения кровообращения и нарастание прогрессирующего острого фиброза легких.

Обсуждение результатов исследований

Параллельное изучение иммунологических механизмов и морфологической картины патологического процесса в легких дает возможность сопоставить полученные результаты на различных этапах аллергического поражения легких. Иммунизация малыми дозами антигена сама по себе не приводит к выраженным изменениям морфологических структур и иммунологического статуса подопытных животных. Однако, через 3—4 нед последующей ингаляции можно отметить развитие патологического процесса, обусловленного реакциями немедленного и замедленного типа (наличие антител в сыворотке, клеточная инфильтрация гистиоцитами, лимфоцитами, макрофагами и плазматическими клетками). По мере развития процесса выраженность реакций немедленного типа ослабевает при усилении замедленных реакций, что дает основание говорить о ведущем значении клеточных механизмов на этапах наиболее выраженных изменений в легких. Последнее подтверждается типичной морфологической картиной, в которой на данном этапе преобладает продуктивная реакция с инфильтрацией клетками лимфоидного ряда, что, согласно [3], является основным признаком аллергической реакции замедленного типа. Вызывает особый интерес то, что даже через 3 мес после окончания ингаляции иммунологические процессы, отражающие сенсибилизацию по клеточному типу, не только не ослабевают, но и усиливаются. В связи с этим можно предположить, что за клеточными механизмами в течение длительного времени сохраняется способность к реакции при возможной повторной ингаляции аллергена. При этом следует подчеркнуть, что поскольку состояние сенсибилизации оценивалось на основании торможения миграции бронхо-альвеолярных клеток, а не клеток периферической крови, есть основание говорить о том, что нарастание сенсибилизации обусловлено способностями иммунокомпетентной системы легкого, лимфоидная ткань которого, как стало известно в последнее время, обладает определенной автономностью [6, 10].

Таким образом, разработанная схема введения антигена позволила получить модель аллергического поражения легких у морских свинок. Полученная модель аллергического бронхопневмонита продуктивного типа с преобладанием замедленных реакций может быть использована для дальнейшего изучения механизмов развития патологии легких аллергического генеза.

Выводы

1. Разработана экспериментальная модель аллергического поражения легких в результате многократных ингаляций раствора овальбумина на предварительно сенсибилизированных морских свинок.
2. Проведенные иммунологические и морфологические исследования показали, что наблюдаемые изменения в легких обусловлены аллергическими реакциями немедленного и замедленного типа, с преобладанием последнего.

Литература

1. Адо А. Д., Лукманова Ф. Ф., Алексеева Т. А., Авдеева Т. А. Моделирование экспериментального поллиноза. БЭБМ, 1977, № 11, с. 590—593.
2. Гублер Е. В., Генин А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Ленинград: Медицина, 1973.—140 с.
3. Есипова И. К. Патологическая анатомия легких. М.: Медицина, 1976.—183 с.
4. Astaldi D., Varga T. Ricerno cito chemical sul conteni in glicogeno dei lymphociti della leucemia limfatica in rapporto allora graolo di naturazi one.—Bull. Soo. Ital. Biol. sperum. 1957, 333, p. 244—248.
5. Ciesa A., Dain D., Gold W. Histamine release during antigen inhalation in experimental astma in dogs.—Amer. Rev. Resp. Dis., 1975, 111, N 2, p. 148—156.
6. Dannenberg A. Influence of environmental factors on respiratory tract.—J. Reticuloend. Soc., 1977, 22, N 3, p. 213—220.
7. Kepron W., James J., Kirk B., Schon A., Kan Tse. A canine model for reaginic hypersensitivity as a allergic bronchoconstriction.—J. Allergy and Clin. Immunol., 1977, N 1, p. 64—69.
8. Mirvik Q. N., Leake E. S., Farris B. Studies on pulmonary alveolar macrophages from the normal rabbit: a technique to procure them in high state of purity.—J. Immunol., 1961, 86, N 2, p. 128—132.
9. Peterson L. B., Thrall R. S., Moor V. L., Stevens J. O., Abramov P. An animal model of hypersensitivity pneumonitis in the rabbit. Induction of cellular hypersensitivity to inhaled antigens using carrageenan and BCG.—Amer. Rev. Resp. Dis., 1977, 116, N 6, p. 1007—1012.
10. Roberts I. A., Moor V. L. Immunogenesis of hypersensitivity pneumonitis.—Amer. Rev. Resp. Dis., 1977, 116, N 6, p. 1075—1086.
11. Robinson I. A., Letratanakul Y. Simultaneous method for detection and quantitation of T- and V-lymphocytes.—J. Immunol. Meth., 1975, 8, N 1/2, p. 53—60.
12. Stadercker M. J., Bishop G., Mortis H. H. Rosette formation by guinea pig thymocytes and thymus derived lymphocytes with rabbit red blood cells.—J. Immunol., 1973, 111, N 6, p. 1834—1837.
13. Wilkie B. N. Experimental hypersensitivity pneumonitis.—Int. Archs. Allergy app. Immunol., 1976, 50, p. 559—573.
14. Wilkie B. N. Experimental hypersensitivity pneumonitis: Reduced severity clinical response following repeated injection of Micropolyspora faeni antigen.—Int. Archs. Allergy appb. Immunol., 1977, 53, N 5, p. 589—594.

Отдел аллергологии
Института проблем онкологии АН УССР;
Центральная научно-исследовательская лаборатория
Киевского медицинского института

Поступила в редакцию
15.1 1979 г.

N. M. Berezhnaya, V. G. Bordonos, L. A. Kuyun, L. V. Yakhimovich
EXPERIMENTAL MODELLING OF LUNGS ALLERGIC DAMAGE

Summary

An experimental model of allergic damage of the lungs is elaborated as a result of the multiple inhalation effect of the ovalbumin solution on the presensitized guinea pigs. The immunological and morphological studies carried out showed that the observed changes in the lungs are due to allergic reactions of immediate and delayed types with predomination of the latter.

Institute for Oncology Problems,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR;
Central Research Laboratory,
Medical Institute, Kiev

УДК 615.365.12:612—017.1

В. Т. Антоненко, С. Ф. Городецкая, Н. П. Пеньковская

ПОЛУЧЕНИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИЦИТОХРОМОКСИДАЗНОЙ СЫВОРОТКИ К ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Для подавления трансплантационного иммунитета применяются сыворотки, полученные к различным клеточным субстанциям лимфоцитов. По данным ряда авторов [1, 11, 12, 15, 18, 20, 21], АЛС к митохондриальным, рибосомальным и мембранным фракциям обладают выраженным депрессивным действием. В поисках путей и способов получения сывороток, лишенных побочных токсических свойств и обладающих специфическим действием, многие авторы используют различные ферменты, в том числе ключевые ферменты энергетического и нуклеинового обмена — фосфорилазу, ДНКазу, цитохромоксидазу [2, 7, 8, 17].

В литературе нет данных о получении и иммунологическом изучении антицитохромоксидазных антител из лимфоидных органов экспериментальных животных.

Целью нашей работы было выделение цитохромоксидазы из лимфоидных органов собак и кроликов, использование фермента для получения антицитохромоксидазных сывороток, изучение их иммунологической активности *in vitro* и эффективности *in vivo* по тесту пролонгации аллотрансплантата.

Методика исследований

Цитохромоксидаза была выделена из лимфоидных органов кроликов и собак по методу Окунуки [9], позволяющему получать фермент довольно высокой чистоты. Активность фермента определяли по методу Штрауса [22] и выражали в индофенольных единицах на 1 мг белка (5 мин инкубации при 37° С). Белок определяли по методу Лоури [16]. Для получения антицитохромоксидазной сыворотки (АЦХОС) двух собак и четырех кроликов породы шиншилла иммунизировали 1,5 мг/кг цитохромоксидазы подкожно с 0,5 мл полного адьюванта Фрейнда. Повторные инъекции фермента в тех же количествах делали через 28—30 дней. Затем два дня иммунизировали животных введением 1 и 1,5 мг цитохромоксидазы внутривенно. На седьмой — девятый день после последнего введения брали кровь и определяли наличие преципитирующих антител по методу Уанье [5] и Оухтерлони [19], а также цитотоксические антитела. При получении высоких титров цитохромоксидазных антител животных обескровливали, сыворотки хранили при +4° С.

Мы изучали действие АЦХОС на сроки выживания аллотрансплантатов. Животным за два дня до пересадки вводили внутрибрюшинно испытуемые сыворотки (в дозе 2 мл/кг кроликам и 0,25 мл/100 г крысам) и продолжали их вводить на следующий, третий, пятый и седьмой дни после пересадки кожных лоскутов. Аллотрансплантацию кожи осуществляли в стерильных условиях. Кожу от одного донора пересаживали нескольким реципиентам. Параллельно животным контрольной группы вводили нормальную кроличью сыворотку и нормальную собачью сыворотку, животным второй контрольной группы — сыворотку вообще не вводили. Пересадка лоскута (2×3 см) произведена у крыс в области спины, у кроликов в области уха.

Результаты исследований и их обсуждение

Проведено два выделения цитохромоксидазы (ЦХО) из лимфоидных органов собак; получено 50 мг фермента с активностью 3—4 индофенольных единицы на 1 мг белка. Фермент обладал высокой антигенной активностью, не оказывая при внутривенном введении токсического действия. Получено четыре серии кроличьих АЦХОС к лимфоидным органам собак. При изучении количества антител методом Уанье в сыворотке иммунизированных животных контролем служили результаты, полученные с НКС. Цифровые значения титров опытных серий сывороток в реакции Уанье представлены в табл. 1. Анализ полученных данных показал, что при выработанной схеме иммунизации титры цитохромоксидазных антител были довольно высокими. Для более полной характеристики иммунологических свойств полученных сывороток использовали метод иммунодиффузии в агаре по Оухтерлони. Формирование линий преципитации наблюдали уже на следующий день после постановки реакции. Титры преципитирующих антител приведены в табл. 1. Титры цитотоксических антител составляли 1:32, 1:64.

Таблица 1

Титры преципитирующих антител в кроличьих антисобачьих сыворотках (метод Уанье и Оухтерлони)

Метод исследования	Серия АЦХОС			
	1	2	3	4
Уанье	1:1280	1:2560	1:2560	1:1280
Оухтерлони	1:8	1:16	1:8	1:4

Проведено четыре выделения цитохромоксидазы из лимфоидных органов кроликов; получено 100 мг фермента. Активность выделенного фермента составляла 2,8—4,6 индофенольных единиц на 1 мг белка; экстинкция индофенольной единицы — 0,330. Полученная при иммунизации собаки сыворотка содержала высокие титры преципитирующих антител, выявленные в реакциях Уанье и Оухтерлони. Титр реакции Уанье составлял 1:1280, Оухтерлони — 1:8; титр цитотоксических антител в РСК 1:320, в цитотоксическом тесте 1:256.

В реакции Оухтерлони проверяли специфичность полученной сыворотки. В центральную лунку наливали антиген-ЦХО из лимфоидных органов кроликов, в три окружающие лунки различные виды АЦХОС (АЦХОС полученная к ЦХО из лимфоидных органов кроликов, АЦХОС из сердечной мышцы собак и АЦХОС из бедренной мышцы собак). Учет реакции показал отличие лишь в скорости появления и выраженности линий преципитации. Наиболее быстро через 12—20 ч появилась линия преципитации с АЦХОС к лимфоидным органам собак. Линии с двумя другими видами АЦХОС появились позже и были менее четкими. Во втором варианте опытов в центральную лунку помещали АЦХОС, полученную к ЦХО из лимфоидных органов собак, в боковые лунки — различные антигены (ЦХО-1 — из лимфоидных органов, ЦХО-2 — из сердечной мышцы собак и ЦХО-3 — из бедренной мышцы). В этой постановке эксперимента проявились те же закономерности. Наиболее быстро и отчетливо линии преципитации появились с ЦХО-1 (две линии преципитации), менее отчетливо — с ЦХО-2 и ЦХО-3 (но линии наблюдались). Дополнительно были проведены

опыты с различными разведениями АЦХОС и антигена. Как показали наши данные, АЦХОС полученная к лимфоидным органам реагировала с ЦХО-2 и ЦХО-3, то есть выделенной из сердечной и бедренной мышц собак в более низком титре (1:2, 1:4), чем с ЦХО-1, полученной из лимфоидных органов собак. В контрольных опытах с тремя НКС формирования линий преципитации не наблюдалось.

Таким образом, сравнительное изучение свойств ЦХО, полученных из сердечной и скелетной мышц собак и лимфоидных органов, показало их высокую антигенную активность.

Однако все три антигена не проявляли выраженной тканевой специфичности, что, по всей вероятности, можно объяснить общностью антигенных свойств фермента цитохромоксидазы, выделенного из перечисленных органов. Различия в скорости появления и выраженности линий преципитаций, вероятно, можно объяснить различиями в изоферментном составе цитохромоксидазы из различных тканей и отличиями в антигенных свойствах изоферментов. Полученные антитела были высокоспецифичны к ЦХО, поскольку цитохром С (контроль) не реагировал в реакции Оухтерлони.

Активность АЦХОС проявлялась также по угнетающему эффекту на цитохромоксидазу в опытах *in vitro*. Кроличья антисобачья сыворотка № 3 в разведении 1:4 угнетала активность цитохромоксидазы в гомогенате селезенки крыс на 40% в течение 5 мин инкубации при 37°С. Разведение гомогената селезенки составляло 1:25. Цельная собачья антикроличья АЦХОС угнетала активность фермента в гомогенате селезенки кролика на 85%.

Указанные сыворотки испытывали *in vivo* по тесту пролонгации кожных лоскутов у крыс и кроликов. В первой серии опытов изучали действие кроличьих антисобачьих сывороток на сроки выживания аллотрансплантатов у белых лабораторных крыс. При однократном введении 0,25 мл/100 г АЦХОС отмечалось уменьшение в периферической крови циркулирующих лимфоцитов до 40—55% исходного уровня. Анализ полученных данных показал, что пересаженные лоскуты до 19 сут находились в удовлетворительном состоянии при избранной схеме введения антицитохромоксидазной сыворотки. Лоскуты были в лучшем состоянии у крыс № 1, 3, 5, 6 (рост волосяного покрова, мягкость лоскута), чем у крыс № 2, 4 (постепенное подсыхание лоскута началось с 14 сут); отторжение на 19 сут отмечалось у крысы № 4 и на 21 сут — у крысы № 2. У остальных крыс подсыхание трансплантатов происходило лишь к 23—25 сут. Наблюдалась корреляция между состоянием кожного лоскута и количеством лимфоцитов в периферической крови. Наименее выраженное уменьшение содержания лимфоцитов наблюдалось при введении АЦХОС у крыс № 2 и № 4, лоскут у них был в худшем состоянии.

Во второй серии опытов исследовали влияние собачьей антикроличьей сыворотки на удлинение жизни аллотрансплантатов у кроликов. Опыты проведены на 17 кроликах, 10 из которых вводили АЦХОС, четырем кроликам вводили нормальную собачью сыворотку, трем кроликам сыворотку не вводили. Полное отторжение кожных лоскутов у контрольных кроликов происходило на 7—12 сут. У животных получавших АЦХОС подсыхание лоскутов происходило на 16—27 сут. Средняя продолжительность жизни лоскутов у подопытных кроликов составляла 22 дня (табл. 2).

Сравнительное изучение влияния АЛС (полученных к антигенам гомогената [1, 3, 4, 6, 14] и митохондрий [10] лимфоидных органов экспериментальных животных) на сроки аллотрансплантации кожи по-

Таблица 2

Сроки выживания трансплантатов кожи у крыс и кроликов

Крысы				Кролики			
№ пп	Кроличья антисобачья АЦХОС	Контроль (интактные)	Контроль НКС (нормальная кроличья сыворотка)	№ пп	Собачья анти-кроличья АЦХОС	Контроль (интактные)	Контроль НКС (нормальная собачья сыворотка)
1	24	9	8	1	21	7	10
2	21	7	10	2	24	9	12
3	26	11	9	3	18	12	9
4	19			4	26		
5	23			5	17		
6	29			6	28		
				7	22		
				8	23		
				9	16		
				10	27		
	<i>M</i> 23,6	9,0	9,0		22,2	9,3	10,3
	$\pm m$ 1,494	1,162	0,581		1,797	1,452	0,871
	$p < 0,001$				$< 0,001$		

казало, что АЛС в применяемых нами дозах продлевает срок жизни кожных лоскутов в среднем на 14—18 дней, антимитохондриальная АЛС — на 20 дней.

Выводы

1. Цитохромоксидаза, полученная из лимфоидных органов по методу Окунуки, вызывает выраженный иммунный ответ у собак и кроликов.
2. Предложенная схема иммунизации способствует преимущественной выработке преципитирующих антител.
3. Полученные антитела специфичны к цитохромоксидазе лимфоидных органов и обладают относительной специфичностью к цитохромоксидазе сердечной и скелетной мышц.
4. Полученная АЦХОС может быть использована наряду с другими биологически активными веществами в качестве иммунодепрессивного средства для подавления трансплантационного иммунитета.

Литература

1. Антоненко Л. И. Порівняльне вивчення впливу АЛС проти нормальних і сенсibilізованих лімфоцитів на виживання аллотрансплантатів шкіри шурів.— Фізіол. журн., 1974, 20, № 5, с. 550—556.
2. Антоненко В. Т., Городецкая С. Ф., Пеньковская Н. П., Корниенко Т. И. Получение и иммунологическое изучение антицитохромоксидазных сывороток к сердечной и скелетной мышцам собак.— Физиол. журн., 1978, 24, № 4, с. 465—471.
3. Антоненко В. Т., Чорненька В. Д. Про участь Т- і В-лімфоцитів лімфоїдних органів у трансплантаційному імунітеті при імунodefіцитах, модельованих антитимусною сироваткою і циклофосфамідом.— Фізіол. журн., 1977, 23, № 6, с. 733—740.
4. Антоненко В. Т., Тимченко А. С., Бачинська Л. Ю. Участь сенсibilізованих і АЛС-резистентних лімфоцитів лімфоїдних органів у формуванні трансплантаційного імунітету.— Фізіол. журн., 1976, 22, № 5, с. 646—650.
5. Гитис Е. М., Казакевич Р. Л., Коврикова Н. П., Муравова Л. П. Использование модифицированной реакции Уанье для выявления циркулирующих антител.— Врачебное дело, 1974, № 4, с. 136—139.

6. Говалло В. И., Космиади Г. А. Изучение иммунодепрессивных свойств антилимфоцитарных сывороток. Бюл. эксперим. биол. и мед., 1968, **66**, № 10, с. 77—80.
7. Гольдфарб Д. М., Замчук Л. А. Антитела к нуклеиновым кислотам.— М., 1975.— 182 с.
8. Дроженников В. А., Губерниев М. А., Перелазный А. А. К вопросу об ингибировании активности ДНКаз специфическими антителами.— Актуальные вопросы клеточной иммунологии и иммуногенетики. София, 1973, с. 224—228.
9. Окунуки К. Цитохромы из сердечной мышцы крупного рогатого скота.— Аналитические методы белковой химии. М., 1963, с. 37—39.
10. Тимченко А. С. Пересадка костного мозга при иммунодепрессии антилимфоцитарной сывороткой: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Киев, 1974.— 18 с.
11. Davis J. S., Bollet A. J. Effects of antibodies on mitochondria.— J. Clin. Invest. 1962, **1**, N 12, p. 2142—2149.
12. Grey I. G., Monaco A. P., Russel P. S. Heterologous mouse anti-lymphocyte serum to prolong skin homografts.— Surg. Forum., 1964, **15**, p. 142—144.
13. Gorer P. A., O'Gorman P. The cytotoxic activity of isoantibody in mice.— Transpl. Bull., 1956, N 3, p. 142—146.
14. Levey R. H., Medawar P. B. Some experiments on the action of antilymphoid antisera.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1966, **129**, N 1, p. 164—177.
15. Levey R. H., Medawar P. B. Nature and mode of action of antilymphocyte serum.— Proc. Nat. Acad. Sci., 1966, **56**, N 4, p. 1130—1137.
16. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, **193**, p. 265—275.
17. Mochan B. S., Lang R. W., Elliott W. B. Studies on a cytochrome oxidase antibody.— Biochim. et biophys. acta, 1970, **216**, p. 96—121.
18. Nagaja H., Mcsenzie W. N. Immunosuppressive effects of antisera prepared with subcellular fractions of thymus, spleen and lymph nodes.— Transplantation, 1971, **12**, N 5, p. 384—388.
19. Ouchterlony O. Antigen-antibody reactions in gels.— Acta pathol., microbiol., 1953, **32**, p. 231—235.
20. Sell S. Antilymphocytic and antibody. Effects in experimental animals and problems in human use.— Ann. Intern. Med., 1969, **71**, N 1, p. 177—196.
21. Singla O. Immunosuppressive properties of heterologous antilymphocytic sera prepared against thymocyte soluble fraction.— Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1972, **140**, N 4, p. 1203—1206.
22. Straus W. Colorimetric microdetermination of cytochrome-c-oxidase.— J. Biol. Chem., 1954, **207**, p. 733—743.

Центральная научно-исследовательская
лаборатория Киевского института
усовершенствования врачей

Поступила в редакцию
15.I 1979 г.

V. T. Antonenko, S. F. Gorodetskaya, N. P. Penkovskaya

PRODUCTION AND IMMUNOLOGICAL STUDY OF THE EFFECTIVITY OF ANTICYTOCHROME OXIDASE SERUM TO THE LYMPHOID TISSUE OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Summary

The paper deals with a production and an immunological study of the effectivity of anticytochrome oxidase serum obtained to cytochrome oxidase from the lymphoid tissue of experimental animals. Cytochrome oxidase obtained by the Okunuki method evokes a distinct immune response in dogs and rabbits; precipitating antibodies are mainly synthesized. The obtained antibodies are specific to cytochrome oxidase of lymphoid organs and relatively specific to cytochrome oxidase of the myocardium and skeleton muscles. An evidence is given for the prolongation of skin allotransplant, which allows to use the obtained cytochrome oxidase sera, among other biologically active substances, as immunodepressive means for suppressing the transplantational immunity.

УДК 612.017

Н. И. Лисяный, М. А. Меньшова

ВЛИЯНИЕ АНТИЛИМФОЦИТАРНОЙ СЫВОРОТКИ НА ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК ТИМУСА И ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ИНТАКТНЫХ И СЕНСИБИЛИЗИРОВАННЫХ ГЕТЕРОЭРИТРОЦИТАМИ МЫШЕЙ

Применение антилимфоцитарной сыворотки (АЛС) вызывает угнетение реакций клеточного и гуморального иммунного ответа на тимус-зависимые антигены и в то же время усиление иммунного ответа на тимуснезависимые антигены [1, 2, 8, 13, 19]. Изучение кооперативных клеточных процессов гуморального ответа показало, что АЛС воздействует на T -лимфоциты-помощники, участвующие в формировании реакции на тимусзависимые антигены [2, 16], и на T -лимфоциты-регуляторы интактных животных, тормозящие иммунный ответ на тимуснезависимые антигены [8, 13].

О влиянии АЛС на клетки-регуляторы гуморального иммунного ответа к тимусзависимым антигенам имеются единичные данные [18]. Важное значение в этом виде регуляции придается клеткам тимуса, которые оказывают на формирование ответа как *in vivo*, так и *in vitro*, по данным одних авторов, депрессивное действие [12, 15, 20], по данным других — стимулирующее [19].

Мы изучали влияние АЛС на иммунорегуляторную функцию клеток тимуса — органа, содержащего преимущественно T_1 -лимфоциты, а также клеток лимфатических узлов, где среди субпопуляции T -клеток содержатся в основном T_2 -лимфоциты [9]. Известно, что адаптивный перенос лимфоидных клеток у мышей может усиливать или угнетать иммунный ответ реципиентов, в зависимости от особенностей их генотипа [6].

В наших опытах использованы мыши линии А, у которых адаптивный перенос лимфоидных клеток лимфоузла вызывает угнетение иммунного ответа реципиентов [6].

Методика исследований

Опыты проведены на мышях линии А, полученных из питомника АМН СССР «Столбовое». АЛС получали против клеток лимфатических узлов мышей этой линии на кроликах [10]. Титр лимфоцитотоксиков в сыворотке составлял 1:512. Клетки для адоптивного переноса получали из тимуса и лимфоузлов на четвертый или седьмой день после внутрибрюшинной сенсibilизации эритроцитами барана 0,2 мл 5% взвеси. Выделение тимоцитов и лимфоцитов производили на среде 199. Жизнеспособность выделенных клеток, оцениваемых по 0,1% трипановому синему, составляла 90—93%. Полученные клеточные взвеси ($5 \cdot 10^6$ или $15 \cdot 10^6$ клеток) вводили внутрибрюшинно интактным реципиентам одновременно с внутрибрюшинным введением 0,5 мл 5% взвеси эритроцитов барана.

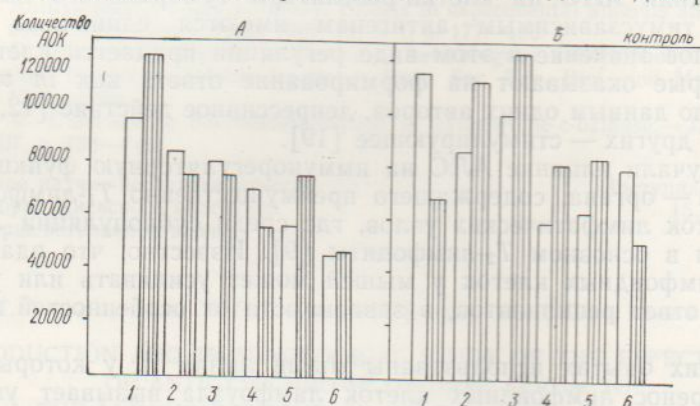
В I серии опытов (шесть—восемь животных в каждой группе) клетки для адоптивного переноса получали от интактных доноров; во II серии опытов (восемь—десять животных в каждой группе) клетки для переноса забирали у доноров, получавших за четыре дня до опыта 0,25 мл АЛС (доза, вызывающая 60—55% угнетения иммунного ответа на эритроциты барана). В III серии опытов (по 10—12 животных в

каждой группе), клетки для адоптивного переноса получали у доноров, сенсibilизированных эритроцитами барана. Донорам вводили по 0,2 мл 0,5% взвеси эритроцитов барана и 0,25 мл нормальной кроличьей сыворотки, а на четвертый и седьмой день забирали клетки для адоптивного переноса. В IV серии опытов (по 10—12 мышей в каждой группе), клетки для адоптивного переноса получали у животных, сенсibilизированных эритроцитами барана на фоне введения 0,25 мл АЛС. Клетки для переноса в этой серии забирали на четвертый и седьмой день после начала сенсibilизации. У реципиентов на четвертые сутки после введения лимфоидных клеток и эритроцитов барана методом локального гемолиза определяли содержание антителообразующих клеток в селезенках [11].

Статистическая обработка материала выполнена по [3] с применением непараметрического критерия «U». Расчет статистической достоверности полученных данных в опытных группах всех четырех серий производился по отношению к данным контрольной группы животных (около 20 мышей), иммунизированных только эритроцитами барана.

Результаты исследований

Рис. 1 иллюстрирует результаты исследований влияния адоптивного переноса сингенных тимоцитов от интактных, сенсibilизированных или сенсibilизированных на фоне введения АЛС доноров на интенсивность иммунного ответа реципиентов. Как видно из рисунка, А, перенос $5 \cdot 10^6$ и $15 \cdot 10^6$ клеток тимуса от здоровых животных существенно не влиял на содержание антителообразующих клеток (АОК) в селезенке реципиентов. Различия между данными этих групп и контрольной группы — животными, иммунизированными только эритроцитами барана — недостоверны ($p > 0,05$). Трансплантация клеток тимуса, полученных на четвертый день после введения донорам 0,25 мл



Содержание антителообразующих клеток в селезенках мышей при адоптивном переносе тимоцитов (А) и клеток лимфатического узла (Б).

Светлые столбики — перенос 5×10^6 , заштрихованные — 15×10^6 клеток тимуса (лимфатического узла). 1 — перенос клеток от интактных мышей; 2 — от животных, получивших за четыре дня до опыта 0,25 мл АЛС; 3 — от животных, получивших за четыре дня до опыта 0,25 мл НКС (норм. крол. сывор.) и 0,5 мл 5% взвеси эритроцитов барана; 4 — от животных, получивших за четыре дня до опыта 0,25 мл АЛС и 0,5 мл 5% взвеси эритроцитов; 5 — от животных, получивших за четыре дня до опыта 0,25 мл НКС и 0,5 мл 5% взвеси эритроцитов; 6 — от животных, получивших за семь дней до опыта 0,25 мл АЛС и 0,5 мл 5% взвеси эритроцитов.

АЛС, вызывала значительное угнетение иммунного ответа реципиентов. Увеличение дозы переносимых клеток тимуса еще более усиливало угнетение иммунного ответа. Статистически достоверное различие между результатами исследований этой серии опытов и данными контрольной группы наблюдалось лишь у мышей, которым трансплантировали $15 \cdot 10^6$ клеток тимуса ($p < 0,05$).

В III серии опытов при переносе тимоцитов от животных с четырехдневной сенсibilизацией эритроцитами отмечалось статистиче-

ски достоверное угнетение иммунного ответа реципиентов, которое усиливалось с увеличением дозы адоптивно переносимых клеток. Способность тимоцитов вызывать угнетение антителообразования у реципиентов сохранялась на седьмые сутки после сенсibilизации доноров эритроцитами барана.

Введение донорам 0,25 мл АЛС одновременно с эритроцитами барана (IV серия опытов) усиливало супрессивное действие на иммунный ответ реципиентов адоптивно переносимых клеток тимуса. Особенно выраженное угнетение иммунного ответа наблюдалось при переносе реципиентам $15 \cdot 10^6$ клеток тимуса от животных с четырех- и семидневной сенсibilизацией.

Таким образом, проведенные опыты показывают, что перенос тимоцитов от животных, получавших АЛС, или от животных, сенсibilизированных эритроцитами барана на фоне введения АЛС, вызывает более выраженное угнетение количества антителообразующих клеток в селезенках реципиентов, чем введение клеток тимуса от интактных или только сенсibilизированных эритроцитами животных.

Адоптивный перенос клеток лимфатических узлов оказывал несколько иное действие на иммунный ответ реципиентов, чем перенос тимоцитов. Так, трансплантация клеток лимфатических узлов от интактных животных (см. рисунок, Б) вызывала угнетение иммунного ответа реципиентов, которое особенно выражено при переносе $15 \cdot 10^6$ клеток, где имелись статистически достоверные различия по сравнению с контролем ($p < 0,05$), тогда как трансплантация клеток лимфатических узлов от животных, получивших 0,25 мл АЛС за четыре дня до опыта, не вызывала угнетения иммунного ответа у реципиентов, что указывает на зависимость этого эффекта от действия АЛС.

При введении реципиентам клеток лимфатических узлов от мышей с четырехдневной сенсibilизацией эритроцитами барана, угнетение иммунного ответа наблюдалось в меньшей степени, чем при переносе интактных клеток лимфоузлов, тогда как трансплантация клеток от доноров с семидневной сенсibilизацией вызывала статистически достоверное снижение иммунного ответа реципиентов.

Увеличение дозы адоптивно переносимых клеток лимфоузлов от сенсibilизированных мышей вызывало уменьшение депрессивного влияния указанных клеток на содержание антителообразующих клеток в селезенке реципиентов.

Введение донорам АЛС одновременно с эритроцитами барана усиливало тормозное влияние адоптивно переносимых клеток лимфоузлов на иммунный ответ реципиентов. Угнетение количества антителообразующих клеток у реципиентов наблюдалось как при переносе клеток лимфоузлов от четырех-, так и семидневно сенсibilизированных доноров на фоне иммунодепрессии АЛС. Различия между данными этой серии опытов и результатами контрольной группы статистически достоверны ($p < 0,05$).

Таким образом, проведенные опыты показывают, что влияние адоптивно переносимых клеток лимфоузлов на иммунный ответ реципиентов зависит от состояния иммунореактивности доноров. Так, перенос интактных клеток лимфоузлов вызывал уменьшение иммунного ответа реципиентов, тогда как введение АЛС интактным донорам снимало тормозное влияние клеток лимфоузлов.

Сенсibilизация доноров эритроцитами барана также сказывалась на иммунорегуляторных свойствах клеток лимфоузлов, в частности, перенос клеток от животных с четырехдневной сенсibilизацией не оказывал тормозного влияния на иммунный ответ, тогда как перенос

клеток от животных с семидневной сенсибилизацией вызывал угнетение иммунного ответа реципиентов.

При адоптивном переносе клеток лимфоузлов от доноров с четырех- или семидневной сенсибилизацией эритроцитами на фоне иммунодепрессии АЛС отмечалось наиболее выраженное угнетение иммунного ответа реципиентов.

Обсуждение результатов исследований

Изучение иммунорегуляторных свойств клеток тимуса и лимфатических узлов intactных мышей линии А или сенсибилизированных в условиях иммунодепрессии, вызванной однократным введением АЛС, или только сенсибилизированных эритроцитами барана показало, что данные свойства изменяются в зависимости от условий постановки опытов.

У intactных животных ведущую роль регуляции иммунного ответа в условиях адоптивного переноса играют клетки лимфоузлов, которые вызывают угнетение иммунного ответа реципиентов, тогда как клетки тимуса intactных животных не оказывают в подобных экспериментах значительного влияния на иммунный ответ реципиентов.

Сопоставимые с нашими данными результаты были получены другими авторами [5, 6], которые показали, что в основном клетки лимфоузлов (а не тимуса, и не клетки селезенки) intactных животных способны вызывать угнетение иммунного ответа реципиентов.

В то же время при воздействии на организм донора АЛС или сенсибилизации гетероэритроцитами качественно изменяется распределение иммунорегуляторных функций среди клеток лимфоидных органов. Так, введение intactным животным 0,25 мл АЛС вызывает, с одной стороны, исчезновение тормозного влияния на иммунный ответ клеток лимфоузлов, с другой — приобретение указанных свойств клетками тимуса, что позволяет думать о чувствительности иммунорегуляторных клеток лимфоузлов intactных животных к действию АЛС, а также о каких-то изменениях в свойствах тимоцитов. Как указывалось раньше, в лимфоузлах находятся две популяции лимфоцитов, из них наиболее чувствительны к действию АЛС Т-лимфоциты, особенно субпопуляции Т₂-лимфоцитов, которая обладает свойством рециркуляции и составляет основную часть Т-лимфоцитов, заселяющих лимфоузел [9].

Известно, что введение АЛС усиливает иммунный ответ к тимуснезависимому антигену, что рассматривается как признание существования Т-клеток-депрессоров в intactном организме, ограничивающих иммунный ответ на независимые от тимуса антигены и указывает на возможность элиминации этих клеток АЛС [8, 13].

В наших опытах с помощью реакции адоптивного переноса показана возможность потери иммунодепрессивных свойств клетками лимфоузлов при введении intactным животным АЛС. Таким образом, можно предположить, что в лимфатических узлах intactных животных имеются клетки, чувствительные к действию АЛС и ограничивающие интенсивность иммунного ответа на тимусзависимый антиген. Появление иммунорегуляторных клеток в тимусе при введении АЛС или сенсибилизации или, более того, при сенсибилизации на фоне иммунодепрессии АЛС, согласуется с данными о способности клеток тимуса выявлять иммунодепрессивные свойства при воздействии антигенов, митогенов [15, 18], а также об исчезновении способности к развитию супрессивной активности сенсибилизированных животных в условиях тимэктомии у взрослых животных [18].

Помимо этого, клетки тимуса под воздействием АЛС более активны по сравнению с клетками других лимфоидных органов в продуцировании фактора, влияющего на дифференциацию и формирование клеточных популяций лимфоидных органов [7].

Развитие супрессивной активности клеток периферических лимфоидных органов иммунизированных животных наблюдалось при adoptивном переносе спленоцитов на 4 и 7 день [17, 19], а также 7, 14 и 21 день [5] после сенсибилизации гетероэритроцитами доноров. Причем, эти супрессивные свойства связываются с функцией T -лимфоцитов, которые не проявляются у интактных животных. В наших опытах клетки лимфоузлов позже чем клетки тимуса иммунизированных мышей приобретали способность угнетать иммунный ответ реципиентов. Но, если сенсибилизация доноров осуществлялась на фоне введения АЛС, то уже на четвертые сутки клетки лимфоузлов способны угнетать иммунный ответ реципиентов. Эти данные свидетельствуют о том, что при действии АЛС и антигена в тимусе и затем в лимфоузлах появляются иммунорегуляторные клетки, и их накопление или, возможно, распределение с тимуса происходит в данном случае быстрее, чем в условиях одной лишь сенсибилизации.

О появлении T -клеток-депрессоров при применении АЛС свидетельствуют данные о формировании трансплантационной толерантности, вызванной введением АЛС [14], при индукции толерантности к растворимым антигенам [4].

Учитывая литературные данные о ведущей иммунорегулирующей функции T_1 -лимфоцитов в реакциях иммуногенеза [18], а также об органном распределении клеток-регуляторов в селезенке [5, 17], в тимусе [12] и позже в лимфоузлах, при сенсибилизации животных тимусзависимым антигеном можно высказать предположение, что клетки-иммунорегуляторы относятся к популяции T_1 -лимфоцитов. Причем в условиях иммунодепрессии АЛС и введения антигена ускоряется генерация этих клеток, хотя в последнем случае возможны и другие предположения, такие как элиминация клеток-хелперов АЛС и т. д.

Таким образом, обобщая изложенное, можно предположить, что в саморегуляции иммунного ответа можно условно выделить два уровня: первый уровень саморегуляции осуществляется в интактном организме, второй — в «активизированном» сенсибилизированном организме.

В первом случае важную роль в саморегуляции играют T -лимфоциты, чувствительные к действию АЛС, возможно, в этой роли выступают T_2 -лимфоциты.

Во втором случае, в организме в процессе сенсибилизации или сенсибилизации в условиях иммунодепрессии АЛС в тимусе, а затем в периферических лимфоидных органах возникает популяция клеток, способных специфически регулировать иммунный ответ к определенному антигену. Эти лимфоциты устойчивы к действию однократно введенной АЛС. Таким образом, можно согласиться с высказыванием, «что угнетение является составным компонентом нормального иммунного ответа» [18].

Помимо указанного выше предположения о различных уровнях саморегуляции иммунных реакций в интактном и сенсибилизированном организме не исключаются и другие возможные механизмы, в частности, нарушение количественного соотношения в составе субпопуляций лимфоцитов, регулирующее влияние макрофагов, B -лимфоцитов и т. д.

Выводы

1. Введение донорам АЛС усиливало депрессивное действие адоптивно переносимых тимоцитов и лимфоцитов лимфоузлов, сенсibilизированных гетероэритроцитами мышей.

2. Адоптивный перенос клеток тимуса и лимфоузлов от сенсibilизированных эритроцитами на фоне введения НКС животных вызывал угнетение иммунного ответа реципиентов, тогда как при переносе этих клеток от интактных животных депрессивными свойствами обладали лишь клетки лимфоузлов.

3. Тормозное влияние клеток тимуса и лимфатических узлов проявлялось как на четвертый, так и на седьмой день сенсibilизации доноров и зависело от дозы вводимых клеток.

Литература

1. Антоненко В. Т. Об особенностях развития анафилактического шока в условиях применения антилимфоцитарной, антиtimoцитарной и антимакрофагальной сывороток.— В кн.: Аллергия, Киев, 1974, с. 5—7.
2. Вихман А. А., Карасик О. А., Софронов Б. Н. Чувствительность лимфоидных клеток к действию антилимфоцитарной сыворотки на различных этапах иммуногенеза.— Бюл. эксперим. биол. мед., 1971, № 5, с. 77—80.
3. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медикобиологических исследованиях.— Ленинград, 1973.—141 с.
4. Лопатина Т. К. Экспериментальный анализ механизмов толерантности к Ви-антигену *Sal. Lyphu*.— В кн.: Современные методы экспериментальной иммунологии и применение их в медицине. М., 1976, с. 16—20.
5. Писарев В. М., Певницкий Л. А. Изучение феномена специфической супрессии иммунного ответа в системе адоптивного переноса.— Бюл. эксперим. биол. мед., 1975, № 5, с. 571—573.
6. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Батырбеков Л. А. Супрессивное действие сингенных В-клеток на иммунный ответ у мышей, относящихся к высоко- или низкореагирующим генотипам.— Докл. АН СССР, 1976, 226, № 6, с. 1446—1448.
7. Ригвава С. А. Изучение влияния лимфоцитарного гуморального фактора на функцию стволовых гемопоэтических клеток: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 1977.—19 с.
8. Barker Ph., Percoft B., Stashek Ph., Amsbough D. Regulation of antibody response to type III pneumococcal polysaccharide by thymic derived cells.— Immune Syst., Genes, Receptors Signals. 3-rd YCN-UCLA Symp. Mol. Biol. N. Y.—L., 1974, p. 415—429.
9. Cauter H., Asofsky R. Synergy among lymphoid cells mediating the graft-versus-host response. II. Synergy in graft-versus-host reaction produced to BA1B/c lymphoid cells of different anatomic origin.— J. Exp. Med., 1970, 131, p. 236—246.
10. Gray G., Monaco P., Wood M., Russel M. Studies of heterologous antilymphocyte serum in immunity.— J. Immunol., 1966, 96, N 2, p. 229—308.
11. Jerne N., Nordin A. Plaque formation in agar by single antibody producing cells.— Science, 1963, 140, p. 407—412.
12. Ha Tai Gou, Waksman B., Treffer H. The thymic suppressor cell. I. Separation of subpopulation with suppressor activity.— Jour. Exp. Med., 1974, 139, N 1, p. 13—23.
13. Kerbel R., Edinger D. Variable effect of ALS on humoral antibody role of thymus dependence of antigen.— Jour. Immunol., 1971, 106, p. 917—931.
14. Kilshaw P., Brent L., Pinta M. An active suppressor mechanism preventing skin allograft rejection in mice.— Transp. Proc., 1975, N 2, p. 225—228.
15. Lawrence D. H., Weigle W. Stimulation of antibody productions the hapten 2-4-dinitrobenzene by affinity Lateled murine lymphoid cells. II. Suppressive activity of on excess of thymocytes.— Cell. Immunol., 1976, 23, p. 117—125.
16. Martin W., Miller J. Cell to cell interaction in the immune response. IV Site of action of antilymphocyte globulin.— Jour. Exp. Med., 1968, 128, N 4, p. 855—873.
17. Simpson M., Tuffle S., Gozzo L. J. In vivo induction of suppressor activity with rabbit antimouse thymocyte serum and antigen.— Transpl. Proc., 1977, N 1, p. 1041—1044.
18. Taylor R. B., Basten P. Ph. Suppressor cells in humoral immunity and tolerance.— British Med. Bullet., 1976, 33, N 2, p. 152—157.

19. Whisler R., Stobo J. D. Heterogeneity of murine regulatory T cells. I Subpopulation of amplifier and suppressor T cells.—*Jour. Exp. Med.*, 1976, 144, N 2, p. 398—413.
20. Wu C. J., Lance P. Immunoregulation by spleen checking thymocytes. II. Role in the response to sheep erythrocytes.—*Cell. Immunol.*, 1974, 13, p. 1—11.

Центральная научно-исследовательская лаборатория
Киевского института усовершенствования врачей

Поступила в редакцию
23.II 1978 г.

N. I. Lisyany, M. A. Men'shova

THE EFFECT OF ANTILYMPHOCYTIC SERUM (ALS) ON IMMUNOREGULATORY
PROPERTIES OF THE THYMUS AND LYMPHATIC NODE CELLS
IN INTACT AND HETEROERYTHROCYTE-SENSITIZED MICE

Summary

The effect of the 0.25 ml ALG single administration was studied as applied to the immunoregulatory properties of the thymus and lymphatic node cells in intact and sensitized mice. It is established that in adoptive transfer either of the thymus or lymphatic node cells to intact syngenetic recipients only the lymphatic node cells possessed immunodepressive activity; ALS administered to donors removed the depressive effect of these cells on the immune response of recipients. In donors sensitized with sheep erythrocytes the immunodepressive activity was higher in the thymus cells than in the lymphatic node cells. Administration of ALS to donors simultaneously with a sensitizing dose of erythrocytes did not remove, and, on the contrary, intensified the depressive effect of the adoptively transferred cells of the thymus and lymphatic nodes on the immune response of recipients. The data obtained are discussed from the position of the immune response self-regulation by T_1 - and T_2 -lymphocytes depending on the functional state of immune reactivity and the ALS effect on the regulation processes.

Central Research Laboratory,
Advanced Training Institute for
Doctors, Kiev

УДК 612.017.6.15.361

Н. В. Ильчевич, Т. М. Зеленская, О. В. Нищименко

ДЕЙСТВИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА G И M, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТЕСТИКУЛЯРНОЙ АНТИСЫВОРОТКИ, НА СЕМЕННИКИ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС

Разделение белков сыворотки крови на фракции и установление связи наименее подвижной из них γ -глобулина — с антителами имеет большое теоретическое и практическое значение. Логическим продолжением таких исследований явилось фракционирование белков сыворотки крови для выделения наиболее активных иммуноглобулинов.

Ранее нами изучались антителикулярные цитотоксические сыворотки (АТЦС), специфичные к половым железам животных и человека [2, 3, 6, 11]. Для повышения специфического направленного действия тестикулярной антисыворотки, а также освобождения ее от балластных белков из нее были выделены γ -глобулиновая фракция, а также иммуноглобулины класса G и M [1, 5]. Показано, что иммуноглобулины класса G и M при изучении *in vitro* обладают разной иммунологической активностью. Было установлено, что комплементсвязывающая и цитотоксическая активность АТЦС обусловлена преимущественно фракцией G. Фракция M оказалась менее активной и специфичной.

В свете полученных данных представляет интерес изучение биологического действия G и M фракций иммуноглобулинов *in vivo*. Мы исследовали морфо-функциональное состояние семенников половозрелых крыс после воздействия IgG и IgM.

Методика исследований

АТЦС получали иммунизацией кроликов водно-солевыми экстрактами, приготовленными из паренхимы семенников крыс. Тестикулярный антиген (10%) вводили животным внутривенно и внутрибрюшинно четырехкратно с интервалом в три дня. Титр антител определяли в реакции связывания комплемента на девятый день после введения антигена. Титр изучаемых сывороток составлял 1:320 и 1:400.

Из АТЦС методом гель-фильтрации на сефадексе Ж-200 по [13] выделяли иммуноглобулины класса M и G. Гель-фильтрацию проводили на колонке (2,6×7,5 см), заполненной сефадексом. Элюцию осуществляли с помощью 0,02 M раствора трис-буфера (pH—8,0) с 0,2 M раствором NaCl. Отбор фракций (по 4 мл) проводили на механическом коллекторе. Спектральную характеристику фракций изучали на спектрофотометре СФ-4А при поглощении в ультрафиолетовой части спектра на волне 280 мкм. Количество белка во фракции определяли по [15]. Идентификацию иммуноглобулинов класса G и M осуществляли методом аналитического диск-электрофореза в полиакриламидном геле по [12, 16]. Электрофорез проводили на аппарате «Реанал» — модель 69.

G и M фракции иммуноглобулинов после диализа против изотонического раствора хлорида натрия вводили пятикратно (ежедневно) в хвостовую вену из расчета по 0,005 мл/0,5 мг белка на 100 г на одну инъекцию. Большая доза выбрана для получения наиболее выраженного эффекта.

Исследования проведены на 52 крысах-самцах в возрасте 5—7 мес линии Вистар. На 3, 10, 21 сут после окончания введения фракций животных декапитировали и семенники брали для гистологических исследований. Органы фиксировали в 10% нейтральном формалине, проводили в спиртах восходящей крепости, парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. На препаратах окуляр-микро-

метром с подвижной шкалой измеряли диаметр семенных канальцев, ширину межканальцевой соединительной ткани, количество клеток Лейдига и диаметр их ядер. Подсчитывали количество канальцев (в %), содержащих определенные клеточные ассоциации, исходя из классификации [17]. Для электронной микроскопии брали кусочки семенных канальцев, для чего крысы наркотизировали нембуталом, перфузировали сосудистое русло [14] 2,5% холодным раствором глutarальдегида с последующей фиксацией в 1% растворе OsO_4 , обезживали в спиртах восходящей крепости, ацетоне и заливали в аралдит. Срезы толщиной 500 Å, полученные на LKB, контрастировали цитратом свинца [18]. Просмотр и фотографирование проводили на электронном микроскопе типа BC-513 А. Во всех экспериментах контролем служили семенники intactных животных. Цифровые данные обрабатывали статистически [7].

Результаты исследований

На третьи сутки после пятикратного введения *IgG* в большинстве семенных канальцев отмечается отслоение клеток сперматогенного эпителия от базальной мембраны. Клетки Сертоли в одних канальцах с плотной гомогенной цитоплазмой, в других — светлой, прозрачной. Преобладают семенные канальцы (68%) на I—VIII стадиях сперматогенеза, характеризующиеся наличием четырех ассоциаций клеток: сперматогоний типа А и В, сперматоцитов I порядка, молодых сперматид в фазах Гольджи и колпачка, а также спермиев в 15—19 стадиях. Однако клетки сперматогенного эпителия изменены: сперматогонии типа А с плотной эозинофильной цитоплазмой и едва определяемым ядрышком. В некоторых канальцах видны единичные сперматогонии типа В со светлым ядром, по которому рассыпаны гранулы хроматина, и прилежащим к ядерной мембране крупным ядрышком. Сперматоциты I порядка на всех стадиях трансформации характеризуются темной эозинофильной цитоплазмой и пикнотичным ядром, сперматиды — лизированными контурами цитоплазмы.

Под капсулой семенника выявляются участки опустошенных семенных канальцев, в которых определяются лишь обрывки сперматогенного эпителия (рис. 1, а). Средний диаметр семенных канальцев снижен по сравнению с intactными животными за счет расширенных межканальцевых соединительнотканых прослоек, в которых определяются клетки Лейдига с крупными ядрами (рис. 2, А, Б).

Наряду с этим встречаются семенные канальцы, в которых сперматоциты I порядка на различных стадиях деления: метафазы, анафазы, что, видимо, обусловлено высокой регенерационной способностью клеток сперматогенного эпителия. Микроциркуляторное русло полнокровно, сосуды выполнены форменными элементами крови, характерно пристеночное расположение лейкоцитов и выход их за пределы сосудистого русла, что свидетельствует о повышенной проницаемости сосудистой стенки. В межканальцевой соединительной ткани и в капсуле семенника вблизи сосуда выявляются клетки с ядром бобовидной формы — гистиоциты.

При исследовании семенных канальцев на уровне ультраструктур видны изменения в органеллах клеток. В частности, митохондрии клеток Сертоли характеризуются очаговым просветлением матрикса, расплывчатыми контурами крист, что свидетельствует об их набухании. Эндоплазматическая сеть представлена крупными деформированными вакуолями и мелкими пузырьками, разделенными прослойками микросреды (рис. 3, а). В клетках Лейдига видны митохондрии разных размеров с очагами просветления матрикса и отсутствием крист, кроме того в цитоплазме клеток определяются бесструктурные тяжи, представляющие собой фиксированные иммунные комплексы, видимые на электронограммах в виде депозитов (рис. 4).

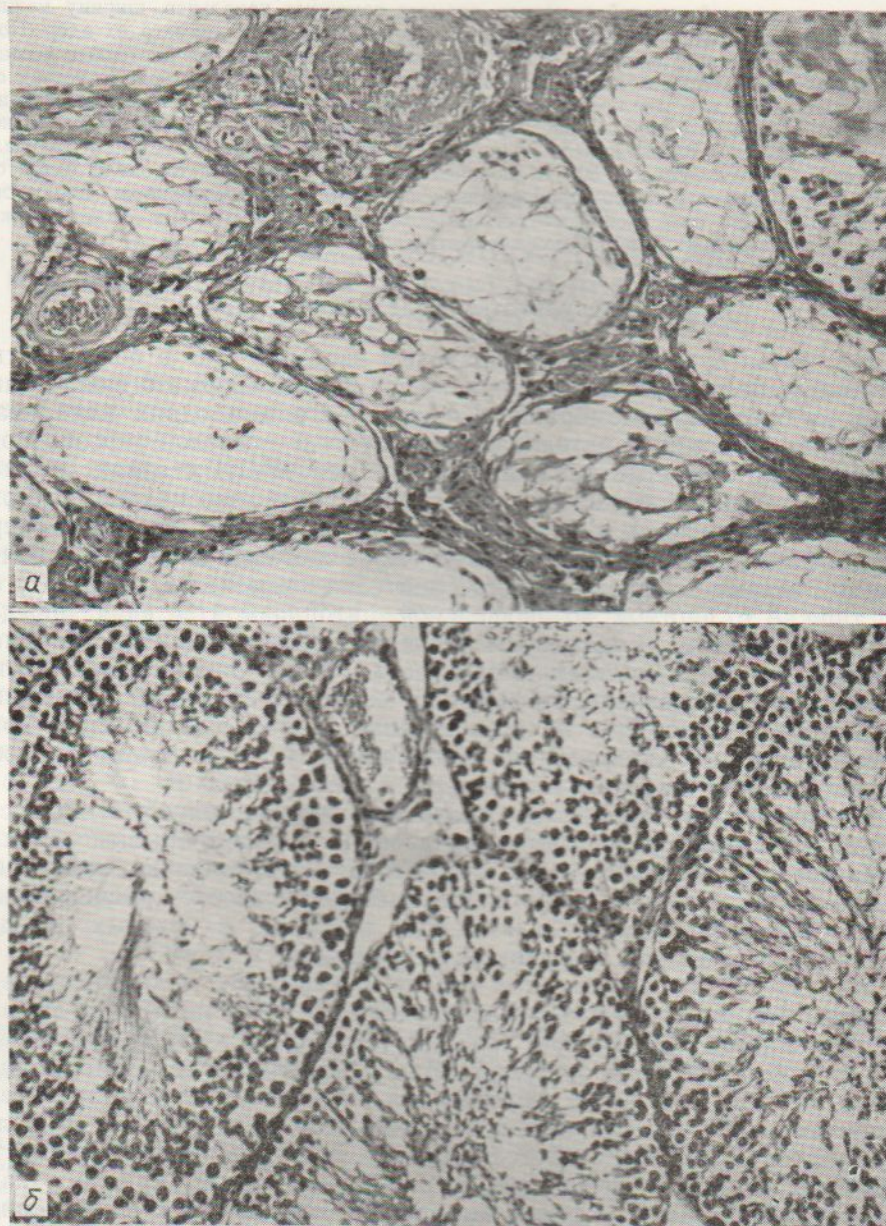


Рис. 1. Семенники крыс на третьи сутки после введения *IgG* (а) и *IgM* (б).
а — опустошенные семенные канальцы, измененные стенки сосудов; б — сперматогенный эпителий на разных этапах дифференциации, умеренное полнокровие сосудов. Гематоксилин-эозин, $\times 320$.

На десятые сутки семенные канальцы на I—VIII стадиях цикла сперматогенного эпителия составляют примерно (как и на третьи сутки) 70%. Отек ткани несколько уменьшен, диаметр семенных канальцев не отличается от наблюдаемого у интактных животных. Однако в большинстве семенных канальцев наряду с нормальными клетками выявляются дистрофически измененные клетки с эозинофильной

плотной цитоплазмой и пикнотичным ядром. Микроциркуляторное русло полнокровно, количество клеток Лейдига значительно увеличено (177,4%), диаметр ядер клеток такой же, как и на третьей сутки.

Электронномикроскопически в некоторых клетках Сертоли выявлены своеобразные структуры сферической формы с фестончатыми краями (рис. 3, б), ограниченные мембраной. Наличие таких фигур, по мнению Поликар и Бесси [8], связано с неконтролируемым поглощением клетками воды, и их образование характеризует патологическое

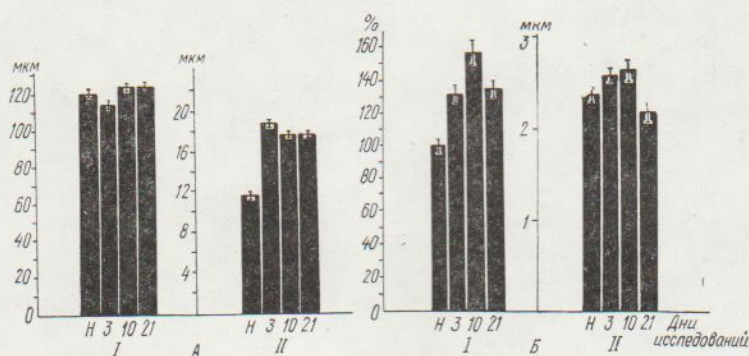


Рис. 2. Морфо- и цитометрические показатели структур семенников после введения больших доз IgG.

А — диаметр семенных канальцев (I), ширина межканальцевых прослоек (II). Б — количество клеток Лейдига (I), диаметр клеток Лейдига (II).

состояние клетки. В содержимом этих структур выявляются гранулы и светлые полости. Поликар и Бесси считают, что в основе этого явления лежит реакция действующего агента с сульфгидрильными группами белков, ведущая к трем процессам: нарушению проницаемости (с усиленным поглощением воды), уменьшению нормальной способности утилизировать воду и соли и, наконец, к повреждению клеточной поверхности. Блокада сульфгидрильных групп белков влечет за собой значительное подавление клеточного метаболизма и приводит к гибели клетки.

На 21 сут после введения IgG количество канальцев на I—VIII стадиях цикла сперматогенного эпителия составляет 76,5%, что указывает на активное деление клеток и усиление сперматогенеза. В одних канальцах сперматогонии типа А и Б мелкие, в других — гипертрофированы, сперматоциты в одних — в стадии роста, в других — дистрофичны. Видны участки нарушения целостности базальной мембраны и проникновения межканальцевой соединительной ткани в канальцы. Под соединительнотканной капсулой выявляются инфильтраты, состоящие из нейтрофилов и гистиоцитов, а также определяются отдельные лимфоидные клетки. Часть мелких сосудов, облитерирована. Диаметр семенных канальцев соответствует примерно наблюдаемому у интактных животных. Количество клеток Лейдига и их диаметр уменьшены по сравнению с десятыми сутками исследования, но по сравнению с интактными животными — достоверно выше. Таким образом, наряду с деструктивными процессами имеют место и репаративные.

На третьи сутки после введения IgM сосуды умеренно полнокровны. Наряду с уменьшением количества семенных канальцев на IX—XIV стадиях сперматогенеза увеличивается количество канальцев в периоде роста и созревания (81%) (рис. 1, б). Определяются единичные семенные канальцы с дисконкомплексированными клетками эпителия. Ши-

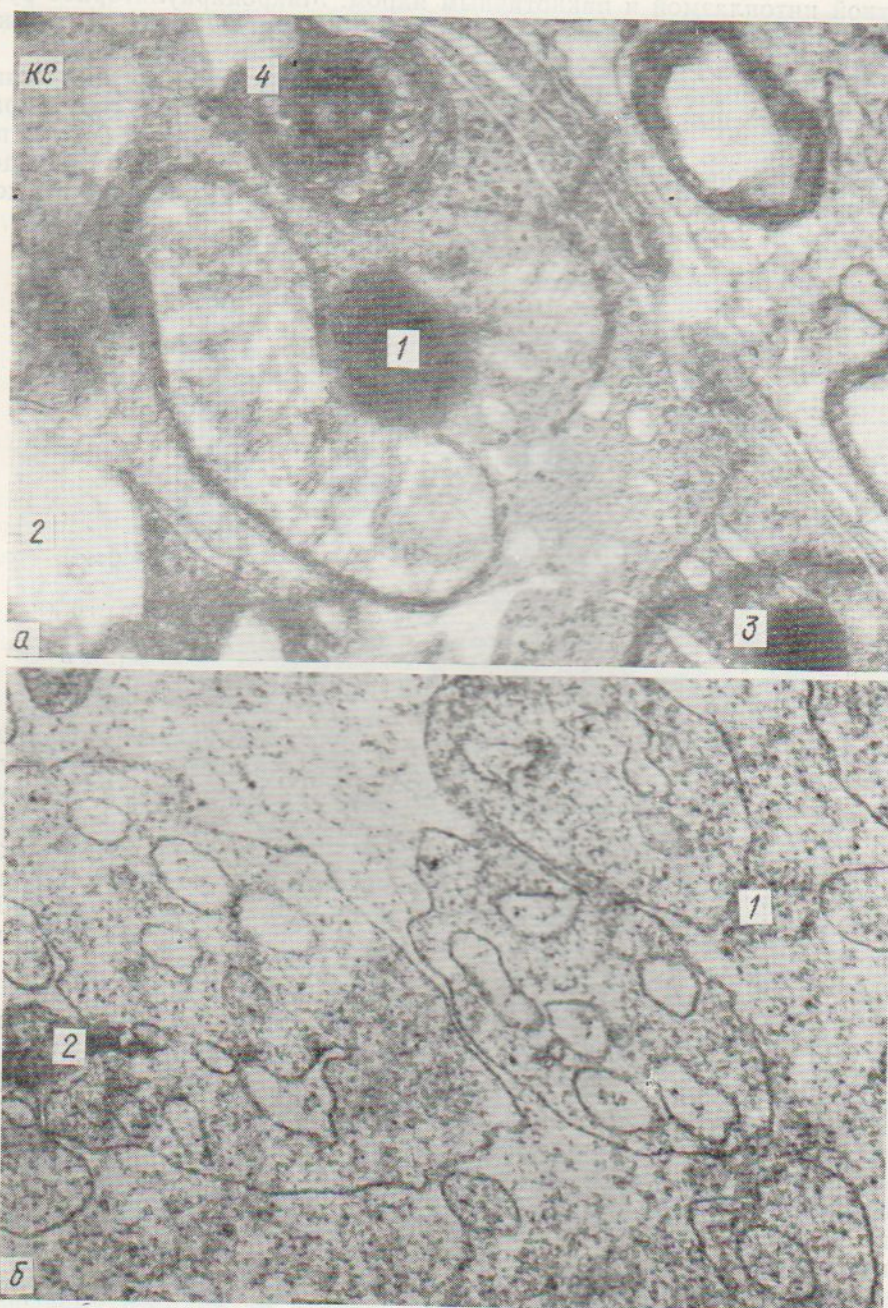


Рис. 3. Фрагменты цитоплазмы клеток Сертоли (КС) на третьи (а) и десятые (б) сутки после введения IgG.
 а — митохондрия с деструкцией крист и очаговым просветлением матрикса (1), эндоплазматический ретикулум в виде крупных (2) и мелких (3) вакуолей, аутофагосома (4); б — на цитоплазматической поверхности клетки видны структуры овальной и причудливой формы (2). Электронограмма, $\times 22\,500$.



Рис. 4. Фрагмент цитоплазмы клетки Лейдига на третьи сутки после введения *IgG*. Бесструктурные тяжи в цитоплазме клетки — место фиксации иммунного комплекса-депозит (Д). Электронограмма, $\times 22\,880$.

рина межканальцевой соединительной ткани не изменена, но в ней выявляются единичные гистиоцитарные и лейкоцитарные клетки, которые видны также и под соединительнотканной капсулой. Размер ядер клеток Лейдига примерно такой же как и у интактных животных.

На десятые сутки слой герминативных клеток широкий, но клетки во многих канальцах дистрофически изменены. Наряду с этим определяются сперматоциты на различных этапах деления. Количество клеток

Лейдига уменьшено, но ядра клеток более крупных размеров ($2,33 \pm 0,12$ мкм — в контроле, $2,7 \pm 0,06$ мкм в опыте).

Через три недели сосуды умеренно полнокровны, в преобладающем большинстве канальцев выявляются клетки эпителия в периоде роста и созревания, о чем свидетельствуют гипертрофированные сперматогонии, сперматоциты на различных стадиях митоза. Диаметры ядер клеток Лейдига примерно такие же как и у интактных животных.

Таким образом, при анализе полученных данных выявляются некоторые отличия в действии G и M-фракций иммуноглобулинов на морфо-функциональное состояние семенников.

При действии IgG статистически достоверно увеличивается ширина межканальцевой соединительной ткани и количество клеток Лейдига, что не отмечено при действии IgM. Наблюдаемое увеличение количества клеток Лейдига, вероятно, связано с нарушением корреляции эндокринных желез. В данном случае можно говорить о гормональной или коррелятивной гипертрофии, являющейся реакцией на гипоплазию вплоть до аплазии сперматогенного эпителия в отдельных канальцах. Описанные изменения можно трактовать как компенсаторно-приспособительный процесс.

При действии больших доз IgG выявляются изменения стенки сосудов. Согласно данным литературы [4], к предполагаемым механизмам повышения сосудистой проницаемости при взаимодействии комплекса антиген-антитело относятся высвобождение гистамина и серотонина, образование биологически активных фрагментов из комплекса, активация специфического фактора проницаемости плазмы и выделение субстанций из полиморфно-ядерных лейкоцитов. IgG обладает способностью проходить через стенки капилляров [4], следовательно, это облегчает их прохождение через гемато-тестикулярный барьер, одним из структурных компонентов которого является сосудистая стенка [9, 10]. IgM не обладает способностью проникать через стенки капилляров [4] чем, видимо, и обусловлен незначительный ингибирующий эффект больших доз этой фракции.

В результате проведенных исследований можно прийти к заключению о том, что большие дозы IgG оказывают более выраженный эффект на семенники половозрелых животных, что имеет важное теоретическое и практическое значение, в частности для использования больших доз IgG в качестве инструмента для моделирования патологического процесса в семенниках с целью изучения патогенеза, часто встречающегося в клинике аутоиммунного орхита. Кроме того, выяснение вопроса о том, за счет какой фракции иммуноглобулинов вызывается специфический эффект действия тестикулярной антисыворотки на семенники важно с точки зрения повышения ее направленного действия.

Литература

1. Ильевич Н. В., Нищименко О. В. Изучение активности M и G антител антителикулярной цитотоксической сыворотки в серологических и цитотоксических реакциях. — Доклады АН УССР, 1975, № 10, с. 932—935.
2. Ильевич Н. В., Барченко Л. И., Нищименко О. В., Зеленская Т. М., Гоноровский А. Г., Михайленко Е. Т. Изучение действия антителикулярной и антиовариальной цитотоксической сыворотки на половые железы животных и человека. — Проблемы патологии в эксперименте и клинике. Сб. научных трудов. Львов, 1979, т. III, с. 63—65.
3. Зеленская Т. М. Влияние антиовариальной и антителикулярной цитотоксических сывороток на функциональное состояние и морфологические структуры яичников и семенников крыс в возрастном разрезе: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — К., 1967. — 20 с.

4. Мовзт Г. Острое воспаление.— В кн.: Воспаление, иммунитет и гиперчувствительность. М.: Медицина, 1975.—560.
5. Нищименко О. В. Характеристика імунологічної активності і специфічності різних класів (М, G) імуноглобулінів антитестикулярної цитотоксичної сироватки.— Фізіол. ж. АН УРСР, 1974, 20, № 5, с. 586—589.
6. Нищименко С. В. Влияние иммунной антитестикулярной цитотоксической сыворотки на половые железы при нарушении их гормональной функции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— К., 1969.—22 с.
7. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований.— Патол. физиол. и эксперим. терапия, 1960, № 4, с. 76—85.
8. Поликар А., Бесси М. Элементы патологии клетки.— М.: Мир, 1970.—348 с.
9. Райцина С. С. Травма семенника и аутоиммунитет.— М.: Медицина, 1970.—182 с.
10. Райцина С. С., Н. С. Гладкова, А. И. Давыдова. Гемато-тестикулярный барьер, ультраструктура его основных компонентов, проницаемость и роль в организации и регуляции сперматогенеза.— В кн.: Тезисы докладов V совещания по проблеме «Гисто-гематические барьеры», посвященного 100-летию со дня рождения академика Л. С. Штерн (20—23 ноября 1978). М., 1978, с. 80.
11. Спасокукоцкий Ю. А., Ильевич Н. В., Барченко Л. И., Нищименко О. В., Зеленская Т. М., Гоноровский А. Г. Действие специфических цитотоксических сывороток на половые железы. К., Наукова думка, 1977,—216 с.
12. Davis B. J. Disc electrophoresis II. Method and application to human serum proteins.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1974, 121, p. 404—406.
13. Flodin P., Killander J. Fractionation of human serum proteins by gelfiltration.— Biochem. acta, 1962 63, p. 403—410.
14. Koenig H., Groat R. A., Windle W. F. A physiological approach to perfusion-fixates of tissues with formalin.— Stain Technology, 1945, 20, N 1, p. 13—22.
15. Lowry O. H. Rosenbrough N. J., Farr A. L., Kandall R. J. Protein measurement with the follin phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, 193, N 1, p. 265—275.
16. Ornstein L. Disc electrophoresis I. Background and theory.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1964, 121, p. 321—328.
17. Perey P., Clermont Y., Leblond P. The wave of the seminiferous epithelium in the rat.— Amer. Anat., 1961, 108, N 1, p. 47—77.
18. Reynolds E. S. The use of lead citrate at high PH as an electron opaque stain in electron microscopy.— J. Cell. Biol., 1963, 17, p. 208—218.

Отдел иммунологии и цитотоксических
сывороток Института физиологии
им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
28. VI 1979 г.

N. V. Ilchevich, T. M. Zelenskaya, O. V. Nishchimenko

THE ACTION OF G AND M IMMUNOGLOBULINS ISOLATED FROM TESTICULAR ANTISERUM ON THE RUBERAL RAT TESTICLES

Summary

The effect of large doses of IgG and IgM, isolated from testicular antiserum specific to the rat testicles, was studied in ruberal male rates, aged 5-7 months. Light and electron microscopy, morpho- and cytometric investigations detected changes in the testicles under the effect of various fractions. Large doses of IgG are shown to produce a more pronounced biological effect.

The results of the research make it possible to explain which fraction of immunoglobulins causes a precise effect of the antitesticular cytotoxic serum action and to use Ig G large doses as a tool affecting the testicles for modelling the pathological process in the experiment for studying pathogenesis of frequent anticomune orchitis, which is of theoretical and practical significance.

Department of Immunology and Cytotoxic Sera,
A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

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

УДК 616.248—085:612.017.1

Л. П. Бобкова, Л. Н. Негрей

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СХЕМАХ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ ТЕРАПИИ

В связи с широким применением глюкокортикоидов для лечения бронхиальной астмы [6, 11, 12] возникает необходимость изучения характера их влияния на функциональную активность лимфоцитов у таких больных. Это обусловлено рядом обстоятельств: во-первых, лимфоциты являются клетками-мишенями для глюкокортикоидов; во-вторых, определенные клинические варианты бронхиальной астмы протекают на фоне иммунологической недостаточности [13, 14], одной из причин которой может явиться стероидная терапия [4].

Методика исследований

Обследовано 86 больных инфекционно-аллергической бронхиальной астмой преимущественно с тяжелым течением. В зависимости от схемы назначения глюкокортикоидов больные были распределены на четыре группы: I группа (49 больных) ежедневно принимали поддерживающие дозы кортикостероидов (триамсинолон 4—10 мг, преднизолон 5—15 мг, дексаметазон 0,5—1 мг от 1 до 7 лет). II группа (12 больных) находилась на альтернирующей терапии (определенная доза стероидов через день); исследование проводилось в динамике через 4, 24 и 48 ч после приема однократной дозы (2—3 таблетки) препарата. III группа (11 пациентов) внутривенно получали 75—100 мг гидрокортизона с постепенным снижением дозы; продолжительность курса лечения 3—4 нед; исследования проводились до, на фоне введения гидрокортизона и через 1—2 нед после его отмены. IV группа (14 человек) обследованы до приема пероральных препаратов и в процессе лечения ими. Контрольную группу составляли 30 здоровых лиц. Функциональную активность *T*-лимфоцитов определяли с помощью реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ) под влиянием ФГА *in vitro* [3] и теста спонтанного розеткообразования — процентное и абсолютное содержание *E*-РОК [7] с последующей фиксацией мазка глутаральдегидом в конечной концентрации 0,06%. Многими исследователями тест спонтанного розеткообразования рассматривается как показатель не только количественной, но и функциональной характеристики *T*-клеток [5, 10, 14]. Функцию *B*-лимфоцитов оценивали косвенно по содержанию иммуноглобулинов *A*, *G*, *M* в сыворотке крови [15] и *IgE* [17]. Наряду с этим изучали периферическую гемограмму (абсолютное количество эозинофилов, лимфоцитов, моноцитов) на фоне глюкокортикоидного лечения. Полученные данные обработаны статистически по общепринятым методам [2].

Результаты исследований

Данные, характеризующие функциональную активность лимфоцитов у больных I группы, представлены в табл. 1, из которой видно, что у больных астмой на фоне длительной кортикостероидной терапии функция *T*-клеток в среднем заметно снижена. Содержание *IgA* и *M* не изменено, уровень *IgG* повышен. Между функцией *T*-лимфоцитов и содержанием *IgE* выявлена умеренная обратная связь (корреляционное отношение для *IgE* по проценту *E*-РОК, абсолютному количеству *E*-РОК и РБТЛ — соответственно 0,466, 0,713, 0,413). При периодическом определении абсолютного количества эозинофилов, лимфоцитов,

моноцитов на фоне длительной кортикостероидной терапии обнаружены нерезкие колебания в пределах нормальных величин.

Результаты обследования больных II группы, находящихся на альтернирующей терапии, приведены в табл. 2, свидетельствующей о том, что функциональное состояние иммунитета через 4 ч после приема стероидов характеризуется снижением бластогенеза ФГА-стимулированных лимфоцитов и процентного содержания *E*-РОК, значительным уменьшением абсолютного количества *E*-РОК, падением уровня *IgG* в сыворотке крови. Через 24 и 48 ч после применения определенной дозы гормонов отмечалось значительное возрастание абсолютного количества *E*-РОК наряду с тенденцией к повышению РБТЛ. Концентрация *IgG*, в этот период повышалась, *IgA*, *M* и *E* — существенно не изменялась.

Таблица 1

Функциональная активность лимфоцитов больных бронхиальной астмой, длительно получающих глюкокортикоиды по ежедневной схеме

Группы обследованных	Показатели функциональной активности лимфоцитов						
	<i>E</i> -РОК, в %	<i>E</i> -РОК, абсолютное количество	РБТЛ, в %	<i>IgA</i> , мг/мл	<i>IgG</i> , мг/мл	<i>IgM</i> , мг/мл	<i>IgE</i> , ЕД/мл
Здоровые лица, $n=30$	$59,4 \pm 1,3$	1479 ± 139	$72,0 \pm 2,3$	$3,1 \pm 0,2$	$14,7 \pm 0,8$	$2,2 \pm 0,3$	77 ± 19
Больные бронхиальной астмой, $n=49$	$34,7 \pm 1,3$	656 ± 103	$57,4 \pm 1,2$	$3,7 \pm 0,4$	$23,8 \pm 1,3$	$2,1 \pm 0,3$	278 ± 95
<i>p</i>	<0,01	<0,01	<0,01	>0,05	<0,01	>0,1	>0,05

Таблица 2

Показатели функциональной активности лимфоцитов у больных бронхиальной астмой, принимающих глюкокортикоиды по альтернирующей схеме

Изучаемые показатели	Изменения после приема однократной дозы глюкокортикоидов				
	Через 4 ч	Через 24 ч	<i>p</i>	Через 48 ч	<i>p</i>
<i>E</i> -РОК, в %	$31,6 \pm 4,5$	$41,6 \pm 3,3$	<0,05	$39,9 \pm 4,5$	>0,05
<i>E</i> -РОК, абсолютное количество	423 ± 29	1210 ± 114	<0,05	902 ± 112	<0,05
РБТЛ, в %	$53,6 \pm 4,3$	$60,0 \pm 5,2$	>0,05	$61,7 \pm 3,4$	>0,05
Уровень им-А, в мг/мл	$3,2 \pm 0,5$	$4,3 \pm 0,4$	>0,05	$3,7 \pm 0,7$	>0,05
муноглобу-Г, в мг/мл	$8,9 \pm 0,8$	$14,9 \pm 2,0$	<0,05	$21,2 \pm 3,0$	<0,05
линов М, в мг/мл	$1,9 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,2$	>0,05	$1,7 \pm 0,2$	>0,05
Е, в ЕД/мл	$36,5 \pm 14$	$53,3 \pm 15$	>0,05	$39,8 \pm 10$	>0,05

Колебания иммунологических показателей у больных III группы на фоне внутривенного введения гидрокортизона иллюстрирует рис. 1, из которого видно, что на второй неделе лечения гидрокортизоном процент *E*-РОК снижается ($p < 0,05$) с последующей тенденцией к увеличению на четвертой неделе; после отмены препарата (через 1—2 нед) процент *E*-РОК превышает исходный уровень ($p < 0,05$) и не отличается от нормальных величин. Хотя изменения абсолютного количества розеткообразующих клеток и повторяют колебания процентного содержания *E*-РОК, они не являются существенными ($p > 0,05$), РБТЛ и уровень *IgA*, *G*, *M* в этих условиях не изменяется. При изучении периферической гемограммы у 25 больных, получающих гидрокорти-

зон, отмечено, что на первой неделе лечения наблюдается отчетливый эозинопенический эффект, сменяющийся на второй неделе увеличением абсолютного количества эозинофилов до исходных показателей, которые сохраняются и после отмены лечения. Колебания абсолютного содержания лимфоцитов менее выражены и носят по сравнению с изменениями эозинофилии разнонаправленный характер.

При анализе данных, характеризующих больных IV группы (рис. 2), можно отметить, что в начале лечения наблюдается сниже-

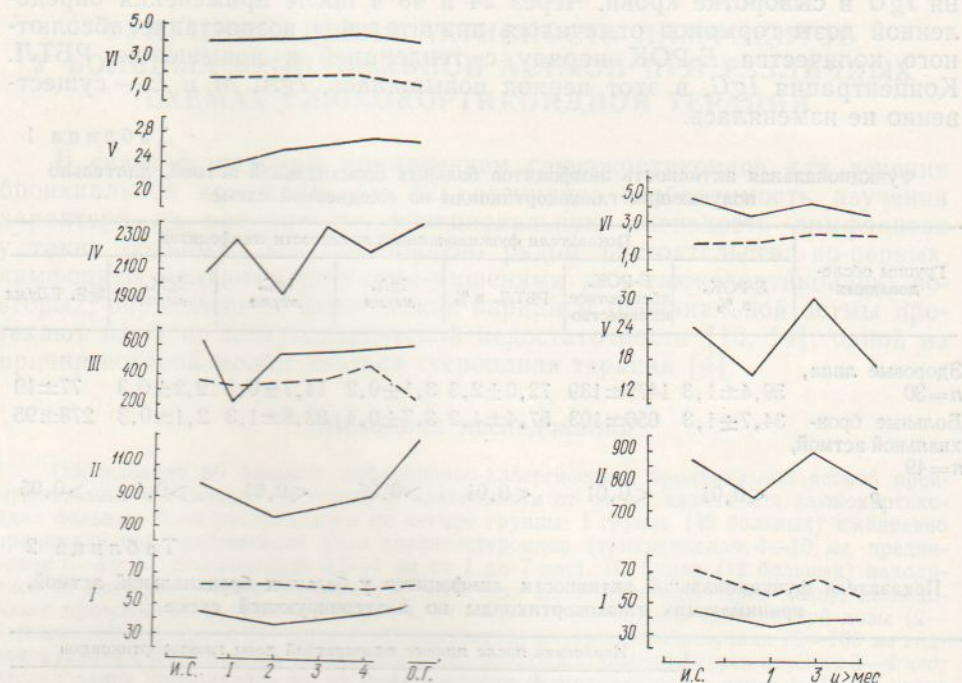


Рис. 1. Изменения иммунологических показателей у больных бронхиальной астмой в период лечения гидрокортизоном.

I — E-РОК, в % (сплошная линия), РБТЛ, в % (пунктирная линия); II — абсолютное количество E-РОК; III — абсолютное количество эозинофилов (сплошная линия), моноцитов (пунктирная линия); IV — абсолютное количество лимфоцитов; V — уровень Ig G, в мг/мл; VI — уровень Ig A, в мг/мл (сплошная линия), Ig M, в мг/мл (пунктирная линия). По горизонтали: И. С. — исходное состояние; цифры — время наблюдения в неделях; О. Г. — отмена гидрокортизона.

Рис. 2. Изменения функциональной активности лимфоцитов у больных бронхиальной астмой при пероральном применении глюкокортикоидов.

По горизонтали — время наблюдения в месяцах. Остальные обозначения см. рис. 1.

ние уровня IgG, процентного содержания E-РОК и blastogenesis ФГА-стимулированных лимфоцитов. Затем следует фаза некоторого увеличения указанных показателей с последующим снижением при продолжении лечения свыше трех месяцев. Концентрация IgA и M не изменяется.

Обсуждение результатов исследований

Полученные данные свидетельствуют о том, что у больных бронхиальной астмой, длительно получавших глюкокортикоиды, функциональная активность T-лимфоцитов снижена, хотя у ряда обследованных выявлены нормальные показатели процентного и абсолютного содержания E-РОК и РБТЛ. В уровне иммуноглобулинов различных

классов на этом фоне наибольшие изменения отмечены для *IgG* и *E*. Нами обнаружен различный уровень *IgE* — как значительно повышенный, так нормальный и сниженный. Между функцией *T*-системы и *IgE* установлена умеренная обратная связь. В плане обсуждения этого факта необходимо отметить, что в настоящее время предполагается вторичная стимуляция *IgE*-системы при повреждении клеточного иммунитета [13]. Следует подчеркнуть, что наиболее высокий уровень *IgE* выявлен у больных инфекционной астмой на фоне атопии. Следовательно, у этих больных при применении глюкокортикоидов может сохраняться способность к гиперпродукции *IgE*, что следует учитывать при назначении стероидов таким больным.

Принципиально важной особенностью влияния глюкокортикоидов на иммунокомпетентные клетки является транзитный характер оказываемых ими максимальных угнетающих эффектов [8, 9, 18]. Это имеет самое непосредственное отношение к альтернирующей стероидной терапии. По нашим данным, при назначении стероидов через день создаются определенные предпосылки для восстановления функции лимфоцитов в свободные от лечения дни, что является одним из преимуществ этой схемы лечения.

Повышение уровня *IgG* при альтернирующем назначении глюкокортикоидов можно объяснить следующим. По литературным данным [16], в пределах нескольких часов после введения глюкокортикоидов отмечено увеличение количества *B*-клеток на 88% у здоровых лиц и на 29% у астматиков. Далее, как показано в наших исследованиях, через 24 и 48 ч после приема кортикостероидов повышается активность *T*-лимфоцитов. Возможно, отмеченные факты имеют отношение к увеличению концентрации *IgG* в указанные сроки исследования.

При первичном назначении пероральных стероидов вслед за снижением показателей, характеризующих функцию лимфоцитов, наступает фаза их повышения, сменяющаяся при дальнейшем лечении повторным падением активности лимфоцитов. На фоне внутривенного введения гидрокортизона эта тенденция выражена в меньшей степени и касается абсолютной эозинофилии и процентного содержания *E*-РОК. Фаза повышения функциональной активности лимфоцитов в данном случае, возможно, связана с включением компенсаторных механизмов. В литературе имеются данные, подтверждающие это предположение. Так, показано [1], что в эксперименте при длительном введении небольших доз глюкокортикоидов за стадией снижения еще в период введения гормонов следует стадия восстановления числа лимфоцитов и эозинофилов. Как показали проведенные исследования, характер изменений изучаемых показателей у отдельных больных каждой группы был неоднозначным. Так, при детальном анализе выявлена различная функциональная способность лимфоцитов больных — от нормальных показателей до значительно сниженных. Это дает основание предположить, что у больных бронхиальной астмой имеется индивидуальная чувствительность лимфоцитов к экзогенным глюкокортикоидам.

Выводы

1. У больных тяжелой инфекционно-аллергической бронхиальной астмой, длительно получающих глюкокортикоиды, функция *T*-клеток снижена.

2. Между функцией *T*-лимфоцитов и содержанием *IgE* выявлена умеренная обратная связь; уровень *IgG* повышен, *IgA* и *M* не отличается от нормальных значений.

3. При альтернирующей схеме лечения через 24 и 48 ч после приема определенной дозы глюкокортикоидов функция лимфоцитов проявляет тенденцию к восстановлению.

4. При первичном назначении глюкокортикоидов за стадией снижения следует фаза некоторого усиления функциональной активности лимфоцитов; при продолжении лечения наступает повторное снижение.

Литература

1. Зак К. П. Роль гормонов коры надпочечников в регуляции морфологического состава крови.— Автореф. дис. ... докт мед. наук.— К., 1971.—34 с.
2. Каминский Л. С. Обработка клинических и лабораторных данных.— Л., 1959.—195 с.
3. Копелян И. И., Григорьева М. Т. Разработка микромодификации культивирования клеток крови человека.— Бюл. эксперим. биол. и мед., 1972, 74, № 8, с. 119—122.
4. Петров Р. В. Иммунология и иммуногенетика.— М., 1976.—335 с.
5. Трапезников Н. Н. и др. Оценка иммунологической реактивности больных меланомой с помощью теста розеткообразования.— Докл. АН СССР, 1975, 222, № 2, с. 468—471.
6. Юренев П. Н., Семенович Н. И., Чучалин А. Г. Бронхиальная астма.— М., 1976.—162 с.
7. Bach J. F. Evaluation of T-cells and thymic serum factors in man using the rosette technique.— Transplantation rev., 1973, 16, p. 196—217.
8. Fauci A. S., Dale D. C. The effect of in vitro hydrocortisone on subpopulations of human lymphocytes.— J. Clin. Invest., 1974, 53, p. 240—246.
9. Fauci A. S., Dale D. C. Alternate-day prednisone therapy and human lymphocyte subpopulations.— J. Clin. Invest., 1975, 55, N 1, p. 2—32.
10. Fernandez L. A., Rajaraman R., Mas Sween J. M. E-rosette formation by human T-lymphocytes: A spontaneous cell mediated cytotoxic phenomenon.— Immunological communications., 1976, N 5, p. 591—602.
11. Grater W. C. Corticosteroids in allergy: a 25-year review.— Repr. from Texas Medicine, 1977, 73, N 4, p. 3—59.
12. Gregg I. The difficult asthmatic.— Drugs, 1977, N 13, p. 35—45.
13. Grove D. I. e. a. Humoral and cellular immunity in asthma.— J. Allergy and Clin. Immunol., 1975, 55, N 3, p. 152—163.
14. Khan A. e. a. Asthma and T-cell immunodeficiency: improvement with transfer factor and immunopeptide.— Ann. Allergy, 1976, 37, N 4, p. 267—275.
15. Mancini G., Carbonare A. O., Hareman J. F. Immunological quantitation of antigens by single radial diffusion.— Immunochem., 1965, 2, N 2, p. 35—240.
16. Parker Ch. W., Hyber M. G., Baumann M. L. Alteration in cyclic AMP metabolism in human bronchial asthma. III. Leucocyte and lymphocyte responses to steroids.— J. Clin. Invest., 1973, 52, p. 1342—1348.
17. Wide L., Porath I. Radioimmunoassay of proteins with the use of sephadexcoupled antibodies.— Biochem. Biophys. acta, 1966, 130, p. 257—263.
18. Wilson I. D., Pang G. T. M., Banguley D. M. A differential effect of prednisone on human B- and T-lymphocytes.— J. Int. Res. Commun., 1974, 2, N 11, p. 1690—1693.

Отдел аллергологии
Института проблем онкологии АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
15.VI 1978 г.

L. P. Bobkova, L. N. Negrey

FUNCTIONAL ACTIVITY OF LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA AT DIFFERENT SCHEMES OF GLUCOCORTICOID THERAPY

Summary

Studies in functional activity of T- and B-lymphocytes in patient with bronchial asthma of infectious-allergic genesis at different schemes of glucocorticoid application showed that a long use of glucocorticoids results in a decrease of T-cell function. A moderate inverse relation is detected between the functional ability of T-lymphocytes and the content of immunoglobulin E. The level of IgG is increased, that of IgA and IgM does not differ from the normal values. When glucocorticoids are used in a definite dose every second day, a tendency to the lymphocytes function recovery is marked 24 and 48 h after taking steroids. The functional activity of lymphocytes at the primary application of glucocorticoids manifests a decrease followed by a certain intensification with subsequent repeated inhibition.

УДК 616.61—089.843—092:612.017:576.8.097

Г. Н. Дранник, Л. А. Мигаль, Н. М. Петрунь, Г. А. Белицкая

РЕАКЦИЯ ОТТОРЖЕНИЯ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА ПОЧКИ И ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

Несмотря на значительные успехи, достигнутые клинической трансплантологией в области пересадки почки, некоторые важнейшие вопросы, связанные с этой проблемой, остаются нерешенными и требуют дальнейших клинических и экспериментальных исследований. Наибольшую трудность представляет своевременная диагностика криза отторжения пересаженной почки. Большинство методов, используемых для этой цели, основаны на применении иммунологических тестов, так как реакция отторжения трансплантата, согласно современным представлениям, является следствием иммунологического конфликта между донором и реципиентом. Однако отторжение почки не ограничивается только иммунологическими проявлениями. В патогенезе реакции отторжения почки, как было показано в последние годы, большая роль принадлежит нарушениям процессов внутрипочечной гемокоагуляции [12]. Кроме того, определенный интерес представляет изучение показателей активности ряда ферментов в динамике посттрансплантационного периода. Подобное комплексное исследование расширит наши представления о патогенетических механизмах отторжения почки и даст возможность изучить информативность различных тестов в диагностике реакции отторжения трансплантата. Особо следует отметить, что пересадки почек в эксперименте, выполненные в условиях предварительно индуцированного гломерулонефрита, являются более адекватными, чем те, которые осуществлялись на интактных животных, так как позволяют учитывать влияние на реакцию отторжения патологического фона.

Методика исследований

Опыты проведены на 12 беспородных собаках весом от 15 до 25 кг. Индукцию гломерулонефрита осуществляли по [4]: Аллотрансплантацию почки производили на сосуды шеи. В качестве иммунодепрессанта использовали козий противособачий антилимфоцитарный глобулин (АЛГ). Введение АЛГ начинали за три—пять дней до пересадки почки и продолжали ежедневно на протяжении первой недели после операции. Начиная со второй недели, АЛГ вводили дважды в неделю. Через месяц после пересадки иммунодепрессант вводили один раз в неделю. В случае развития криза отторжения, дозу АЛГ увеличивали. Препарат вводили внутримышечно, из расчета 20—30 мг/кг.

Для оценки функции почки в динамике опыта определяли содержание мочевины и креатинина в крови. Состояние гуморального иммунитета изучали при помощи реакции связывания комплемента на холоду с почечным антигеном и лимфоцитотоксического теста. Активность клеточного иммунитета оценивали с помощью теста ингибции миграции лейкоцитов (ИМП) в присутствии почечного и лимфоцитарного антигенов. Нормальными показателями миграции лейкоцитов считали показатели, укладывающиеся в интервал 0,8—1,3. Продукты распада фибрин/фибриногена (ПРФ) в

моче определяли двумя методами: иммунохимическим [19] (антисыворотку к собачьему фибрину получали по [17]) и биохимическим [1].

В плазме крови подопытных животных определяли активность трансаминазы [5], глутаминазы I (обеих ее форм — фосфатзависимой и фосфатнезависимой — ФЗГ и ФНГ) и активность системы глутаминазы II или пируват — зависимой [8]. Активность трансаминазы выражали в условных единицах (полученные данные умножали на 10, в качестве субстратов использовали L-канаванин и L-орнитин). Количество аргинина определяли с помощью реакции Сакагучи в модификации Фарбижевского с соавт. [14].

Результаты исследований и их обсуждение

Контрольные исследования, проведенные у собак до начала индуцирования гломерулонефрита, не выявили патологических изменений со стороны почек и иммунной системы организма. На высоте развития хронической почечной недостаточности отмечались резкое снижение функции почек, а также иммунопатологические и ферментативные нарушения (см. таблицу). Анализ результатов показал, что средняя продолжительность функционирования аллогенной почки в условиях применения АЛГ составляла $43,6 \pm 12,2$ дней (от 25 до 175). Отметим, что из 12 собак отторжение наступило у восьми, две — погибли от кровотечения из анастомозов при хорошо функционирующем трансплантате; две собаки были забиты для патоморфологических исследований.

Уже через сутки после пересадки почки концентрация мочевины в крови снизилась в среднем на 42, а креатинина — на 49% по сравнению с дооперационным периодом. В дальнейшем эти показатели продолжали уменьшаться, не достигая, однако, нормальных величин.

При анализе иммунологических данных было обнаружено, что иммунодепрессивная терапия, начатая до пересадки почки, привела к нормализации ИМЛ у собак с гломерулонефритом. Однако в посттрансплантационном периоде у животных отмечались случаи усиления ИМЛ, что расценивалось нами как признак угрожающего криза отторжения (см. рисунок). В качестве примера приводим график, отражающий динамику изученных показателей у собаки № 4. Отметим, что ИМЛ усиливалась под влиянием как почечного, так и лимфоцитарного антигенов. Усиление ответа на почечный антиген связано, по-видимому, с наличием у собак до пересадки иммунопатологического компонента. Появление сенсибилизации к лимфоцитарному антигену носит характер *de novo* и объясняется развитием иммунологической реакции на трансплантационные антигены донора. Можно предположить, что эти два процесса принимают участие в патогенезе отторжения, действуя синергично. Усиление ИМЛ предшествовало ухудшению функции трансплантата (см. рисунок а, б, д). В некоторой степени это касается и изменений в активности трансаминазы (см. рисунок, г). Усиление иммунодепрессивной терапии в двух случаях привело к временному

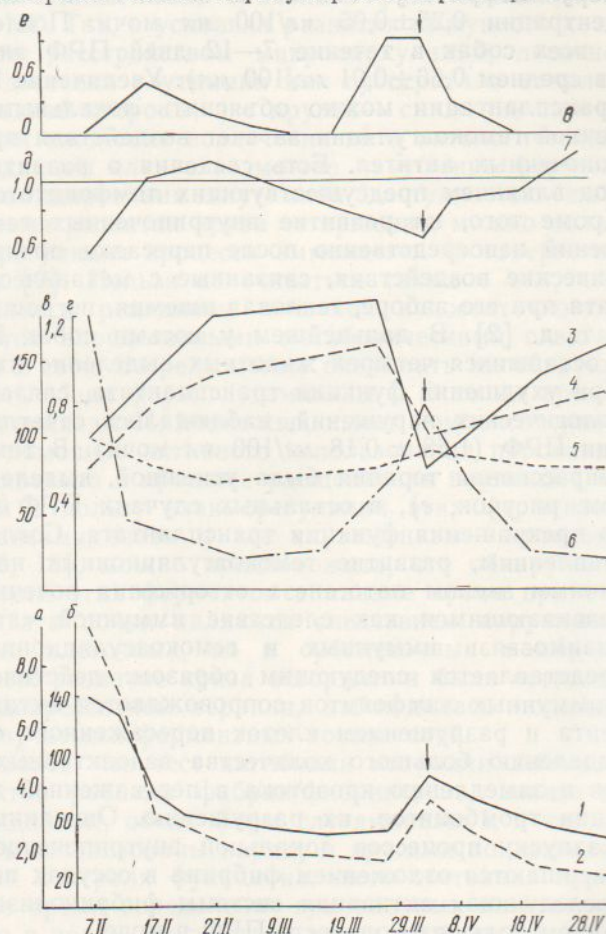
Иммунологические и биохимические показатели у собак в норме и при

Исследуемый по- казатель	Мочевина	Креатинин	Протеинурия в % n=8	Трансаминаза в усл. ед. n=8
	мг % n=12			
Норма	35,3±3,5	0,95±0,11	0	0
ХПН	149,9±12,1	7,44±0,31	8,2±1,7	1,05±0,03
p<	0,001	0,001	0,001	0,001

купированию криза отторжения. Что касается гуморальных антител, то сразу же после пересадки они не были обнаружены. Однако к концу 2 нед в некоторых случаях их удавалось выявить (как противопочечные, так и лимфоцитотоксические). Титры их были невысокими, а появление в циркуляции крови носило нерегулярный характер. Особо отметим, что гуморальные антитела непосредственно перед ухудшением функции трансплантата не выявлялись. Напротив, их появление, как правило, регистрировали после ухудшения функции пересаженной почки. Тем не менее, сам

Изменения содержания мочевины (1), креатинина (2), активности ФЗГ (3), ФНГ (4), глутаминазы II (5), трансаминазы (6), степени ингибиции миграции лейкоцитов (7), содержания ПРФ в моче (8) у собаки № 4 до и после аллотрансплантации почки.

По горизонтали — время до и после аллотрансплантации почки; по вертикали: а — уровень креатинина (в мг%); б — концентрация мочевины (в мг%); в — активность ФЗГ, ФНГ и глутаминазы II (в мкг N-NH₃); г — активность трансаминазы (в усл. ед.); д — индекс миграции лейкоцитов; е — содержание ПРФ в моче (в мг/100 мл). Стрелкой обозначен день, когда был диагностирован криз отторжения и была усилена иммунодепрессия.



факт появления антител говорит об участии в реакции отторжения В-системы иммунитета.

Как уже было отмечено, ПРФ определяли в моче двумя методами. Сравнение полученных результатов показало их полное совпадение. Это свидетельствует о том, что биохимический метод по чувст-

развитии хронической (почечной недостаточности (ХПН) ($M \pm m$)

Глутаминаза I		Глутаминаза II	Тест ингибиции миграции лейкоцитов $n=12$	Противопочечные антитела ($\log_2$ титра) $n=12$
ФЗГ	ФНГ			
в мкг N-NH ₃ , $n=8$				
355,0 $\pm$ 17,5	232,0 $\pm$ 22,0	62,0 $\pm$ 7,4	1,08 $\pm$ 0,02	0
82,0 $\pm$ 7,4	105,0 $\pm$ 12,0	100,0 $\pm$ 14,0	0,57 $\pm$ 0,04	0—2,7 $\pm$ 0,3
0,001	0,001	0,05	0,001	

вительности не уступает иммунохимическому, а, учитывая сравнительную простоту и доступность его выполнения — предпочтительней его. При анализе полученных данных оказалось, что ПРФ в моче собак до индукции гломерулонефрита не обнаруживали. При развитии гломерулонефрита у семи из 12 собак ПРФ выявляли в среднем в концентрации $0,25 \pm 0,05$ мг/100 мл мочи. После трансплантации почки у всех собак в течение 7—12 дней ПРФ экскретировались с мочой (в среднем $0,66 \pm 0,01$ мг/100 мл). Увеличение ПРФ в моче собак после трансплантации можно объяснить локальным нарушением внутрипочечной гемокоагуляции за счет воздействия предсуществующих противопочечных антител. Есть сведения о развитии подобных нарушений под влиянием предсуществующих лимфоцитотоксических антител [11]. Кроме того, на развитие внутрипочечных гемокоагуляционных нарушений непосредственно после пересадки почки могут влиять неспецифические воздействия, связанные с механической травмой трансплантата при его заборе, тепловая ишемия, погрешности в консервировании и т. д. [2]. В дальнейшем у восьми собак ПРФ из мочи исчезали, у оставшихся четырех животных выделение их значительно снизилось. При ухудшении функции трансплантата, связанной с развитием иммунологических нарушений, наблюдалось отчетливое увеличение экскреции ПРФ ($1,68 \pm 0,18$ мг/100 мл мочи). В том случае, когда иммунодепрессивная терапия была успешной, выделение ПРФ прекращалось (см. рисунок, е), в остальных случаях ПРФ продолжали выделяться до прекращения функции трансплантата. Согласно современным представлениям, развитие гемокоагуляционных нарушений является вторичным звеном патогенеза отторжения почечного аллотрансплантата, развивающимся как следствие иммунной «атаки» на трансплантат. Взаимосвязь иммунных и гемокоагуляционных звеньев патогенеза представляется следующим образом: действие гуморальных антител и иммунных лимфоцитов сопровождается активацией системы комплемента и разрушением клеток пересаженного органа. Это приводит к выделению большого количества вазоактивных веществ, спазму сосудов и замедлению кровотока в пересаженной почке, повышению агрегации тромбоцитов, их разрушению. Описанные нарушения приводят к запуску процессов локальной внутрипочечной коагуляции, которые завершаются отложением фибрина в сосудах почечного трансплантата. Последующая активация системы фибринолиза сопровождается появлением больших количеств ПРФ в моче.

Повреждение трансплантата под влиянием иммунных и гемокоагуляционных механизмов влечет за собой ферментные нарушения. Так, при развитии криза отторжения отмечалось резкое повышение активности трансаминазы (см. рисунок, г) и не менее резкое снижение активности глутаминазы I (обеих ее форм), в то же время активность глутаминазы II имела даже некоторую тенденцию к увеличению (см. рисунок, в). Повышение активности трансаминазы в плазме крови можно объяснить нарушением целостности канальцевого аппарата нефрона, развившегося вследствие иммунного конфликта [3]. Известно, что основным местом локализации этого фермента являются проксимальные канальцы [20], при их разрушении трансаминаза освобождается и поступает в ток крови. Изменения же в активности глутаминдезамидирующих ферментов, наибольшее содержание которых было обнаружено также в канальцевых структурах нефрона [13], следует рассматривать как следствие расстройств канальцевых функций почки, в частности функции противодействия метаболическому ацидозу. Известно, что глутаминазы — это ферменты, ответственные за

синтез аммиака в почках. Снижение способности почек экскретировать аммоний во время развития реакции отторжения было отмечено рядом авторов [9, 10]. М. Я. Ратнер с соавт. [9] даже утверждают, что нарушение этой функции почек может быть иногда единственным проявлением криза отторжения. Попытаемся объяснить факт снижения в плазме крови и ФЗГ, и ФНГ. Так, в условиях развития иммунного конфликта, сопровождающего расстройством микроциркуляции, логично предположить снижение доставки глутамина как субстрата в канальцевые клетки почек — с одной стороны, а с другой — снижение синтеза глутамина в печени как следствие вовлечения её в патологический процесс [6]. То есть, в данном случае возможно нарушение ферментативной регуляции дезамидирования глутамина доступностью субстрата. Кроме того, во время развития криза отторжения, можно полагать, нарушается также регуляция процесса аммонийногенеза «энергетическим статусом» клетки [7]. Нельзя не считаться также с тем, что криз отторжения, проявляясь рецидивом почечной недостаточности, непременно сопровождается определенными метаболическими сдвигами на уровне клетки, что в свою очередь может оказывать ингибирующее влияние на активность обеих форм глутаминазы I. В то же время усиление активности глутаминазы II, возможно, имеет компенсаторное значение, реализуемое с помощью активного использования пировиноградной кислоты как активатора в процессе расщепления глутамина — факт, свидетельствующий в пользу взаиморегуляции этих ферментов [15]. Учитывая, что трансамидиназа и все глутаминазы — митохондриальные ферменты [16, 18], можно предположить, что обнаруженные изменения в активности этих ферментов в плазме крови при отторжении аллотрансплантата почки являются следствием нарушения проницаемости не только клеточных, но и субклеточных мембран. У тех животных, у которых развитие криза отторжения было остановлено усилением иммунодепрессивной терапии, наблюдалась положительная динамика всех изучаемых ферментных показателей.

Заключая, можно сказать, что тест ингибиции миграции лейкоцитов, определение продуктов распада фибрин/фибриногена, показателей активности трансамидиназы, обеих форм глутаминазы I, а также глутаминазы II могут быть использованы наряду с другими показателями в качестве тестов для контроля функционального состояния пересаженной почки. В то же время определение гуморальных антител не может быть использовано в целях диагностики криза отторжения.

Патогенез отторжения аллогенной почки представляется весьма сложным. Он состоит из основного (иммунного), вспомогательного (гемокоагуляционного) и сопутствующего (ферментные нарушения) звеньев. По всей вероятности, на основании изучения последних двух звеньев можно лишь подтвердить развитие криза отторжения, предсказать же его развитие можно на основании своевременного распознавания усиления функции иммунной системы защиты. Это диктует необходимость разработки новых, более чувствительных методов, каковыми могут стать методы изучения цитохимического профиля лимфоцитов в динамике посттрансплантационного периода.

Литература

1. Белицер В. О., Варецька Т. В., Цинкаловська С. М., Царюк Л. А., Шевченко Л. І., Білецька Г. О., Єна Я. М. Визначення продуктів розщеплення фібриногену й фібрину за їх протизсідальною дією. — Укр. біохім. журн., 1976, 48, № 4, с. 521—532.
2. Биленко М. В. Ранние изменения в аллогенном почечном трансплантате в фазе ан-

- тигенного распознавания и при начальных признаках острого криза отторжения.— В кн.: Ранние проявления тканевой несовместимости. М., 1976, с. 15—16.
3. Горюнов В. Г. Определение функции трансплантированной почки.— В кн.: Материалы I Всесоюз. съезда нефрологов. Минск, 1974, с. 55—56.
 4. Дранник Г. Н., Соколов А. В., Петрунь Н. М., Мигаль Л. А., Мацуй В. И. Моделирование гломерулонефрита у собак.— Физиол. журн., 1978, № 4, с. 476—481.
 5. Мардашев С. Р., Карелин А. А. Определение трансаминазы в сыворотке крови и моче при поражении почек и поджелудочной железы.— В сб.: Методы исследования активности некоторых ферментов в клинике. М., 1967, с. 67—76.
 6. Маянский Д. Н. Первичные и вторичные изменения печени при трансплантационной болезни.— В кн.: Ранние проявления тканевой несовместимости. М., 1976, с. 168.
 7. Ньюхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма.— М.: Мир, 1977.—407 с.
 8. Петрунь Н. М., Мигаль Л. А. Колориметрический метод определения трех типов глутаминаз в тканях и биологических жидкостях.— Лабор. дело, 1975, с. 352—353.
 9. Ратнер М. Я., Томилина Н. А., Алексеева Л. П., Федорова Н. Д. О субклинических кризах отторжения почечного аллотрансплантата.— Вестник АМН СССР, 1973, № 8, с. 59—64.
 10. Томилина Н. А., Федорова Н. Д., Бирюкова Л. С. Влияние иммунодепрессии на функцию почечного аллотрансплантата.— В кн.: Иммунодепрессия при трансплантации органов. М., 1973, с. 114—124.
 11. Busch G. J., Martins A. C. P., Hollenberg N. R. e. a. A primate model of hyperacute renal allograft rejection.— Amer. J. Path., 1975, 79, N 1, p. 31—56.
 12. Claes G., Svalander C., Bergentz S. E. The accumulation and distribution of platelets and fibrin in rejecting dog kidneys.— Acta chir. scand., 1973, 139, p. 91—96.
 13. Curthoys N. P., Sindel R. W., Lowry O. H. Rat kidney glutaminase isoenzymes.— In: Enzymes Glutamine Metabol. New-York, London, 1973, p. 259—275.
 14. Farbiszewski R., Worowski K., Rzezcycki W. The application of a modified Sakaguchi's method for quantitative estimation of protein-bound arginine.— Chem. anal. (PRL), 1972, 17, N 1, p. 133—137.
 15. Fine A., Scott J., Bourke E. Studies on the glutamine aminotransferase w-amidase pathway in human kidney in vitro.— J. Lab. and Clin. Med., 1972, 80, N 4, p. 591—597.
 16. Kalra J., Bosnan J. T. The subcellular localisation of glutaminase isoenzymes in rat kidney cortex.— J. Biol. Chem., 1974, 249, N 10, (p. 3255—3260).
 17. Lervis J. H., Wilson J. H. Fibrinogen breakdown products.— Amer. J. Physiol., 1964, 207, N 5, p. 1053—1057.
 18. Magry E., Baldoni G., Crazi E. On the biosynthesis of creatine. Intramitochondrial localisation of transaminase from rat kidney. FEBS Lett., 1975, 55, N 1, p. 91—93.
 19. Merskey C., Lalezari P., Johnson A. J. A rapid, simple, sensitive method for measuring fibrinolytic split products in human serum.— Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1969, 131, N 3, p. 871—875.
 20. Methfessel J. Zur Organ- und Subzellularverteilung der Transaminase bei Mensch und Ratte.— Acta biol. et med. ger., 1976, 35, N 3—4, p. 309—315.

Лаборатория патологической физиологии
и лаборатория биохимии
Киевского института урологии

Поступила в редакцию
11.VII 1977 г.

G. N. Drannik, L. A. Migal', N. M. Petrun', G. A. Belitskaya

PATHOGENESIS OF REJECTION OF RENAL TRANSPLANT CORRELATION OF IMMUNOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICES IN DYNAMICS OF POSTTRANSPLANTATION PERIOD

Summary

The immunological and biochemical investigations indices were studied in dynamics of the posttransplantation period in dogs after renal transplantation with the preliminary induced chronic glomerulonephritis. It is shown that the degree of leukocytes migration, the products of fibrin/fibrinogen splitting in urine, the transaminase activity, glutaminase I activity (both forms — phosphate-dependent and phosphate-independent) and glutaminase II activity can be used as control tests of functional state of renal transplant. In authors's opinion it is difficult to determine pathogenesis of rejection crisis of the renal transplant which consists of basic (immune), auxiliary (hemocoagulation) and accompanying (enzyme disorders) links.

Research Institute of Urology, Kiev

УДК 612.017.1:616.36—002

И. Н. Алексеева, Ю. Г. Тимошенко

СОДЕРЖАНИЕ РОЗЕТКООБРАЗУЮЩИХ КЛЕТОК В СЕЛЕЗЕНКЕ И ТИМУСЕ КРЫС ПРИ РАЗЛИЧНОМ ФУНКЦИОНАЛЬНОМ СОСТОЯНИИ ПЕЧЕНИ

При всем многообразии литературных данных о том, что поражение печени сопровождается нарушением иммунного статуса организма, в частности изменением реакций на негепатогенные антигены, сведения эти в значительной степени противоречивы. С одной стороны, показано, что токсическое поражение печени кроликов четыреххлористым углеродом приводит к усилению антителообразования на эритроциты барана и сывороточные белки [8]. С другой стороны, есть данные о том, что поражение печени большими дозами антигепатоцитотоксической сыворотки снижает антителообразование на эритроциты барана, что выражается в уменьшении титра гемолизинов и гемагглютининов в сыворотке, количества антителообразующих клеток в селезенке в лимфоузлах [6]. Установлено также, что поражение печени четыреххлористым углеродом у морских свинок приводит к снижению резистентности к дизентерийной инфекции [4]. Наши предыдущие исследования [3] показали, что поражение печени у крыс четыреххлористым углеродом или большими дозами антигепатоцитотоксической сыворотки приводит к уменьшению в лимфоидных органах количества лимфоцитов, образующих спонтанные розетки с эритроцитами барана (*E*-розеток), обеднению тимуса клетками. Выраженность этих изменений связана со степенью нарушений функций печени. Интересно выяснить, как отражается улучшение функций печени на показателях иммунитета.

Установлено, что антигепатоцитотоксическая сыворотка, примененная в малых дозах на фоне поражения печени четыреххлористым углеродом или экзогенными желчными кислотами, в значительной степени нормализует функции печени [1, 3, 5].

Мы изучали некоторые показатели иммунитета у крыс при различном функциональном состоянии печени: в норме, при применении четыреххлористого углерода (CCl_4) и при введении малых доз антигепатоцитотоксической сыворотки (АГЦС) после применения CCl_4 .

В качестве показателей иммунитета определено количество *E*- и *EAC*-розеткообразующих клеток в тимусе и селезенке, количество клеток в этих органах и их вес. Лимфоциты человека и животных, образующие *EAC*-розетки с эритроцитами барана (ЭБ), относятся к *B*-лимфоцитам — предшественникам антителообразующих клеток [7, 10, 11]. Для человеческих лимфоцитов, образующих спонтанные розетки с ЭБ (*E*-розетки), установлена принадлежность к *T*-лимфоцитам [10]. Лимфоциты крыс, образующие спонтанные розетки с ЭБ, могут рассматриваться как антигенсвязывающие клетки. Принадлежность их к тому или другому виду лимфоцитов в настоящее время точно не установлена.

Методика исследований

В суспензии клеток тимуса и селезенки определяли два вида розеткообразующих клеток: I — клетки, образующие розетки с 0,5% интактными эритроцитами барана — E-розетки, II — клетки, образующие розетки с 0,5% эритроцитами барана, нагруженными гемолизином и мышинным комплементом — EAC-розетки [2]. К 0,1 мл суспензии клеток селезенки или тимуса, содержащей $2 \cdot 10^8$ клеток, прибавляли 0,1 мл ЭБ. Смесь выдерживали 5 мин при комнатной температуре, затем центрифугировали 5 мин при 200 g. При определении EAC-розеток смесь сразу же ресуспендировали и подсчитывали количество розеток в камере Горяева. При определении E-розеток смесь после центрифугирования выдерживали 1 ч при 4°C , затем ресуспендировали и подсчитывали количество розеток. Розеткой считали клетку, присоединившую четыре и более эритроцита. Рассчитывали также общее количество клеток в органе (тимусе и селезенке).

В первой серии опытов крысам трехкратно, с интервалом в два дня вводили 0,25 мл/100 г CCl_4 при разведении 1:1 подсолнечным маслом, под кожу. Во второй серии опытов крысам после трехкратного введения CCl_4 , начиная со следующего дня, внутривенно через каждые два дня вводили гамма-глобулиновую фракцию антигепатотоксической сыворотки (γ -АГЦС) в дозе 0,06 мг белка на 100 г веса на одно введение. Титр АГЦС в реакции связывания комплемента был 1:200—1:320. В третьей серии опытов крысам после трехкратного введения CCl_4 вводили гамма-глобулиновую фракцию нормальной кроличьей сыворотки (γ -НКС). Дозы и схема введения такие же, как и при введении γ -АГЦС. Исследования проведены на 1, 4, 8, 18 сут после последнего введения CCl_4 . Интактные крысы служили контролем. Опыты проведены на 76 крысах. Результаты обработаны статистически с применением критерия Стьюдента.

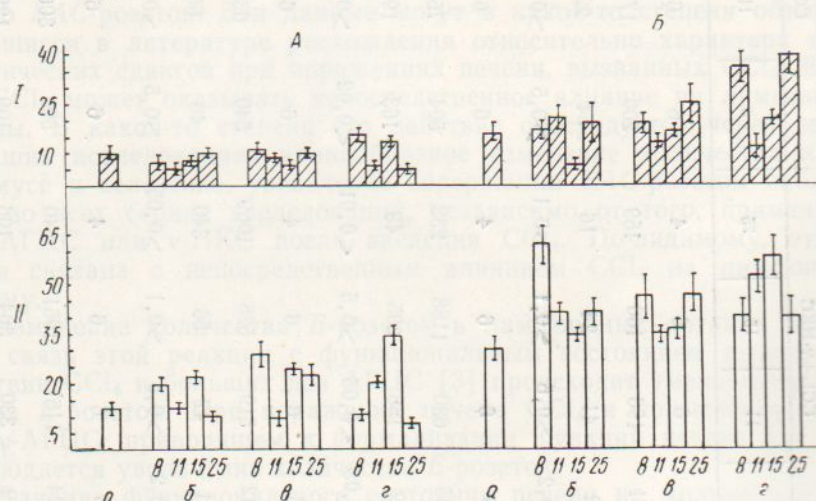
Результаты исследований и их обсуждение

Применение CCl_4 привело к увеличению количества EAC-розеток в селезенке и тимусе (см. рисунок). Это увеличение наблюдалось во всех трех сериях исследований. В селезенке при введении одного CCl_4 максимум увеличения EAC-розеток приходился на восьмые сутки. Количество EAC-розеток в 2,2 раза превысило их уровень в контроле ($p < 0,01$). В серии опытов с введением γ -НКС после CCl_4 максимальное увеличение числа EAC-розеток также приходилось на восьмые сутки после последнего введения CCl_4 , количество их составило 156% от уровня, наблюдаемого в контроле ($p < 0,05$). В опытах с введением γ -АГЦС после CCl_4 максимальное увеличение числа EAC-розеток наблюдалось на 15 сут после последнего введения CCl_4 . Их количество в два раза превысило контрольный уровень ($p < 0,02$). В тимусе увеличение количества EAC-розеток более выражено в опытах с введением γ -АГЦС и γ -НКС после CCl_4 . Максимум увеличения EAC-розеток в серии опытов с введением γ -АГЦС после CCl_4 приходился на 15 сут после последнего введения CCl_4 . Число EAC-розеток в три раза превысило исходный уровень ($p < 0,001$). В серии опытов с введением γ -НКС после CCl_4 максимум увеличения EAC-розеток наблюдался на восьмые сутки. Количество EAC-розеток составляло 250% от уровня, наблюдаемого в контроле ($p < 0,01$). В опытах с введением одного CCl_4 максимум увеличения EAC-розеток приходился на 15 сут, их количество составило 185% от уровня, зарегистрированного в контроле ($p \leq 0,05$).

Применение одного CCl_4 вызвало существенное уменьшение количества E-розеток в селезенке. На 15 сут это уменьшение было статистически достоверным ($p < 0,02$). Содержание E-розеток в тимусе под влиянием одного CCl_4 существенно не изменилось. В серии опытов с введением γ -НКС после CCl_4 в тимусе на 15 сут наблюдалось снижение числа E-розеток ($p < 0,05$). Применение γ -АГЦС после CCl_4 , в отличие от действия одного CCl_4 и действия γ -НКС на фоне CCl_4 , вызывало существенное увеличение количества E-розеток в селезенке.

На восьмые сутки количество *E*-розеток в селезенке превысило исходный уровень в 2,2 раза ($p < 0,02$), а на 25 сут — в 2,3 раза ($p < 0,05$). В тимусе содержание *E*-розеток при применении γ -АГЦС менялось волнообразно: на восьмые сутки их число в 1,8 раза превысило контрольный уровень, на 11 сут статистически достоверно понизилось, на 15 сут вновь превысило исходный уровень в 1,5 раза, а на 25 сутки понизилось, составив 40% от уровня в контроле.

Анализ изменения количества клеток в тимусе и селезенке (см. таблицу) показал, что применение CCl_4 во всех сериях опытов



Содержание *E*- и *EAC*-розеткообразующих клеток в тимусе и селезенке крыс при введении γ -АГЦС и γ -НКС после применения CCl_4 .

I — *E*-розетки, *II* — *EAC*-розетки; *A* — тимус, *B* — селезенка; *a* — контроль, *б* — CCl_4 , *в* — $\text{CCl}_4 + \gamma\text{-NKS}$, *г* — $\text{CCl}_4 + \gamma\text{-AGC}$. По вертикали — количество розеткообразующих клеток в %, по горизонтали — сутки после последнего введения CCl_4 .

уменьшает количество клеток в этих органах. Наблюдалась четко выраженная волнообразность изменения количества клеток в тимусе и селезенке. В тимусе уменьшение количества клеток во всех сериях происходило на 8 и 25 сут, а на 11 и 15 сут наблюдалось их увеличение, но не до уровня, наблюдаемого в контроле. Вес тимуса существенно не менялся во всех сериях исследований.

Вес селезенки во всех сериях увеличивался. На 25 сут после последнего введения CCl_4 наблюдалось максимальное увеличение веса. Наиболее выражено это увеличение было в серии исследований с введением γ -АГЦС после CCl_4 — в 2,4 раза ($p < 0,05$), несколько менее выраженное — при введении γ -НКС — в 2,1 раза ($p < 0,05$), еще менее выраженное при действии одного CCl_4 — в 1,7 раза ($p < 0,05$).

Суммируя полученные данные, можно сказать, что применение CCl_4 оказывает существенное влияние на лимфоидные органы. Примененная в данном исследовании доза CCl_4 вызывала дисфункцию тимуса и селезенки. С одной стороны, наблюдалось уменьшение количества клеток в обоих органах и снижение количества *E*-розеток в селезенке. С другой стороны, обнаружено увеличение количества предшественников антителообразующих клеток — *B*-розеткообразующих лимфоцитов — *EAC*-розеток. На снижение функций лимфоидных органов при действии CCl_4 , в частности — снижение веса тимуса, количества клеток в нем, митотического индекса указывают и другие исследова-

Вес тимуса и селезенки крыс и общее количество клеток в них при применении малых доз γ -АГПС и γ -НКС после трехкратного введения CCl_4

Орган	Изучаемые показатели	Статистические показатели	Конт. роль	Сутки после последнего введения											
				CCl ₄				CCl ₄ +γ-НКС				CCl ₄ +γ-АГПС			
				8	11	15	25	8	11	15	25	8	11	15	25
Тимус	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	210	258	237	279	233	171	196	160	159	200	171	231	186
		±m	13	25	30	32	15	22	41	24	16	54	22	32	29
		p		>0,1	>0,2	>0,05	>0,2	=0,2	>0,5	>0,1	>0,1	>0,5	>0,2	>0,5	>0,5
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		=0,05	>0,05	>0,2	>0,05	>0,2	>0,5	>0,1	>0,05	>0,5	>0,1	=0,1	<0,05
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	5	6	6	4	5	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		=0,05	>0,05	>0,2	>0,05	>0,2	>0,5	>0,1	>0,05	>0,5	>0,1	=0,1	<0,05
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	5	6	6	4	5	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,02	>0,5	>0,1	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	<0,01	<0,02	>0,1	>0,1	<0,01
	Количество клеток, ×10 ⁶	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
Селезенка	Вес, в мг	n	10	6	6	6	4	6	6	6	4	6	6	6	4
		M	496	649	629	587	831	542	519	528	1069	540	635	628	1199
		±m	35	50	38	56	180	41	47	56	340	48	65	14	352
		p		<0,001	>0,1	>0,5	<0,02	<0,05	<0,05						

ния [9]. Сопоставление данных об изменении показателей иммунитета, в частности содержания E и EAC -розеток в лимфоидных органах, под влиянием CCl_4 в данной работе и в наших предыдущих исследованиях [3], где при одинаковой схеме введения мы применили CCl_4 в два раза большей дозе, говорит о том, что от дозы яда зависит характер иммунологических сдвигов в организме. Большая доза CCl_4 приводит к уменьшению количества E -розеток и не влияет на количество EAC -розеток, в два раза меньшая доза CCl_4 , оказывая некоторое угнетающее действие на E -розеткообразование, увеличивает количество EAC -розеток. Эти данные могут в какой-то степени объяснить имеющиеся в литературе расхождения относительно характера иммунологических сдвигов при поражениях печени, вызванных CCl_4 . Введение CCl_4 может оказывать непосредственное влияние на лимфоидные органы. В какой-то степени его действие опосредуется через печень. В наших исследованиях волнообразное изменение количества клеток в тимусе и селезенке, увеличение содержания EAC -розеток наблюдалось во всех сериях исследований, независимо от того, применялась ли γ -АГЦС или γ -НКС после введения CCl_4 . По-видимому, эта реакция связана с непосредственным влиянием CCl_4 на лимфоидную систему.

Изменение количества E -розеток в лимфоидных органах показывает связь этой реакции с функциональным состоянием печени. При действии CCl_4 и больших доз АГЦС [3] происходит уменьшение количества E -розеток. При поражении печени CCl_4 и применении малых доз γ -АГЦС, приводящем к нормализации функций печени [1, 2, 3], наблюдается увеличение количества E -розеток.

Влияние функционального состояния печени на количество E -розеткообразующих клеток в лимфоидных органах крыс, по-видимому, связано с изменением метаболизма в печени веществ, участвующих в созревании этих клеток.

Вопрос этот требует дальнейшего изучения.

Литература

1. Алексеева И. М., Касаткина М. Г., Бризгина Т. М. Вплив антигепатоцитотоксичної сироватки на функціональний стан печінки при її ураженні екзогенними жовчаними кислотами.— *Фізіол. журн. АН УССР*, 1976, 22, № 5, с. 604—609.
2. Алексеева И. М. О регуляции функций печени с помощью антигепатоцитотоксической сыворотки.— В кн.: *Фундаментальные проблемы гастроэнтерологии*. Львов, 1977, с. 145—146.
3. Алексеева И. М. Вміст розеткоутворювальних клітин в лімфоїдних органах шурів в умовах експериментального ураження печінки.— *Фізіол. журн. АН УРСР*, 1977, 23, № 6, с. 764—770.
4. Астахова В. С. Особенности течения дизентерии Зоне на фоне панкреатита и гепатита: Автореф. канд. дис.— К., 1976.—23 с.
5. Галенко Т. И. Исследование действия антигепатоцитотоксической сыворотки на активность ферментов в печени и сыворотке крови: Автореф. канд. дис.— К., 1977.—16 с.
6. Ильчевич Н. В., Антоненко Л. И. Клеточные и гуморальные показатели антителиогенеза у крыс при поражении печени антигепатоцитотоксической сывороткой.— *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол.*, 1977, № 9, с. 81—86.
7. Петров Р. В., Иммунология и иммуногенетика.— М.: Медицина, 1976.—333 с.
8. Прокопенко Л. Г., Кедровская Н. Н. Гуморальные факторы стимуляции иммуногенеза при токсическом поражении печени.— *Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунол.*, 1976, № 6, с. 57—62.
9. Редькина Е. К., Овакимов В. Г. Реакция лимфоидной ткани при интоксикации CCl_4 —Патол. физиол. и эксперим. терапия, 1977, № 2, с. 43—48.
10. Birnbaum G. Numbers of rosette forming cells in human peripheral blood.— *Cell. Immunol.*, 1976, 21, N 2, p. 371—378.

11. Franceschi C., Perocco P., Poalucci P., Prodi G. Selective effect on T- and B-cell subpopulations in rat lymphoid organs after urethan treatment.—*Int. Arch. Allerg. and Appl. Immunol.*, 1976, 50, p. 513—524.
12. Robinson J. A., Letratanakul G. A. Detection and Quantitation of T- and B- lymphocytes.—*J. Immunol. Methods*, 1975, 8, N 1/2, p. 53—60.

Отдел иммунологии и цитотоксических
сывороток Института физиологии
им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
9.III 1978 г.

I. N. Alekseeva, Yu. G. Timoshenko

CONTENT OF ROSETTE-FORMING CELLS IN THE RAT THYMUS AND SPLEEN UNDER CONDITIONS OF DIFFERENT FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER

Summary

A three-fold introduction of carbontetrachloride in a dose of 0.25 ml/100 g of diluted with oil (1:1) is accompanied by a decrease in the number of cells forming of E-rosettes with sheep erythrocytes, by an increase in the number of cell forming EAC-rosettes with sheep erythrocytes and by a decrease in the total number of cells in the thymus and spleen. Normalization of the liver functions by small doses of a gamma-globulin fraction of antihepatocytotoxic serum is accompanied by an increase in the number of E-rosette forming cells in rat lymphoid organs.

Department of Immunology and Cytotoxic
Sera A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

УДК 612.603:577.15

М. Г. Касаткина

АКТИВНОСТЬ И ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СПЕКТР ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ЧАСТИЧНОЙ ГЕПАТЭКТОМИИ

Щелочная фосфатаза сыворотки крови происходит из различных органов [11, 15]. У здоровых крыс фермент сыворотки в основном кишечного происхождения [8, 12] и в небольшом количестве — костно-печеночного. Поражение печени сопровождается изменением общей активности и изоферментного спектра в сыворотке крови [7, 13].

Частичная экстирпация печени с одной стороны приводит к повреждению печеночных клеток [18], с другой — к резкой активации пролиферативных процессов [3, 4], что сопровождается значительными ферментативными сдвигами в печени животных [2], в частности, значительным усилением активности ЩФ [9, 14], вследствие повышения активности фосфатазы, локализуемой в плазматических мембранах [17].

Однако, среди литературных данных, в которых отмечается изменение общей активности ЩФ в сыворотке крови при регенерации печени нет сведений о том, какое влияние оказывает частичная гепатэктомия на изоферментный спектр ЩФ, являющийся более тонким индикатором нарушения метаболических сдвигов в ходе патологического процесса, и как он изменяется в ходе восстановительных процессов.

Мы изучали изоферментный спектр ЩФ сыворотки крови крыс при частичной экстирпации здоровой и пораженной печени.

Методика исследований

Эксперименты проведены на 40 беспородных крысах-самцах весом 200—250 г, распределенных на пять групп (в каждой группе по 8 животных); I и II — контрольные (соответственно здоровые животные и с лапаротомией); III — с экстирпацией 2/3 печени; IV — с экстирпацией 2/3 печени, пораженной дезоксихолевой кислотой; V — с поражением печени дезоксихолевой кислотой без экстирпации. Исследования проводили через 1, 2, 3, 6, 14, 30 сут после частичной гепатэктомии. Экстирпацию печени у крыс проводили по общепринятой методике [10] под эфирным наркозом. Поражение печени вызывали добавлением в обычный рацион животных 0,8% от веса пищи дезоксихолевой кислоты, ежедневно в течение двух недель. Пищу тщательно измельчали и перемешивали.

Активность ЩФ определяли по [6]. Ферментативную активность выражали в международных единицах, означающих количество микромолей *n*-нитрофенола, освобожденного за 1 мин 1 л сыворотки. Разделение изоферментного спектра проводили в 7% полиакриламидном геле с последующим гистохимическим окрашиванием по Гомори [1] в модификации Яворского [5]. Электрофоретическую подвижность (*R*) вычисляли посредством деления скорости передвижения ферментной фракции на скорость передвижения альбуминов.

Результаты исследований

Как показали проведенные исследования, в сыворотке крови крыс с частичной экстирпацией печени отмечено увеличение активности ЩФ

с максимальным повышением на 2—3 сут после экстирпации. В этот период активность ЩФ превышала показатели здоровых животных в три раза. Затем наблюдалось постепенное снижение активности фермента. К шестым суткам активность ЩФ значительно снижалась по сравнению с предыдущим сроком эксперимента. Ее показатели опре-

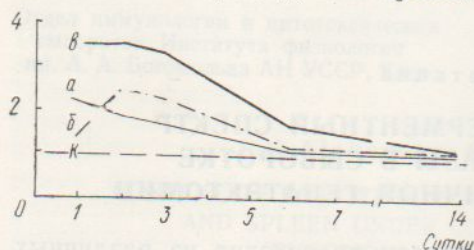


Рис. 1. Кратность изменения активности (по вертикали) щелочной фосфатазы сыворотки крови крыс в процессе регенерации при частичной гепатэктомии у здоровых животных и при поражении печени.

К — контроль, а — поражение печени дезоксиголевой кислотой, б — частичная экстирпация здоровой печени, в — частичная экстирпация пораженной дезоксиголевой кислотой.

делялись на уровне верхних границ нормы или были несколько повышенными (на 25%) у двух животных из семи. Через 14 сут в одном опыте из шести активность ЩФ превышала показатели здоровых жи-



Рис. 2. Электроферментный спектр щелочной фосфатазы сыворотки крови здоровых животных (К), в процессе регенерации после поражения печени дезоксиголевой кислотой (а), после частичной экстирпации здоровой (б) и пораженной дезоксиголевой кислотой печени (в).

вотных на 80%. Средние показатели ЩФ этой группы животных были на 18% выше, чем в контрольной. Через 30 сут активность фермента не отличалась от наблюдаемой у контрольных животных.

Повышение общей активности ЩФ сопровождается изменениями в электроферментном спектре, выраженными либо в количественных различиях, либо в появлении фракций, не характерных для здоровых животных. Через сутки после частичной гепатэктомии на электрофореграмме определялся один характерный для здоровых животных электрофермент с $R = 0,30$, более интенсивно окрашенный (рис. 1). Через 2 сут появлялся второй электрофермент с большей электроферетической подвижностью ($R = 0,39$), менее интенсивный, чем первый. Через 3 сут электрофермент с $R = 0,39$ определялся у двух животных из 11. Интенсивность электрофермента с $R = 0,30$ достигала нормальной к концу первой недели эксперимента.

Скармливание животных дезоксиголевой кислотой приводило к изменениям активности ЩФ сыворотки крови. Спустя сутки после прекращения скармливания дезоксиголевой кислоты активность ЩФ в сыворотке крови увеличивалась в 2,3 раза, по сравнению с наблюдаемой у здоровых животных. Через 2 сут она снижалась на 110 по сравнению с определяемой в первые сутки, но в 2,1 раза превышала средние показатели активности у контрольных животных. Через 3 сут снижение активности ЩФ продолжалось, она была на 23% ниже, чем в первые сутки эксперимента и на 84% превышала показатели контрольных животных. Через 6 сут средние показатели активности фермента превышали нормальный уровень на 27%, но из восьми животных у двух она была как у контрольных, а у двух других — в пределах верхней

границы нормы. К 14 сут эксперимента активность ЩФ была в пределах величин, определяемых у контрольных животных.

При скормливания животных дезоксихолевой кислотой в изоферментном спектре ЩФ сыворотки крови, кроме присутствующего у здоровых крыс изофермента с $R = 0,30$, появляется изофермент с большей электрофоретической подвижностью ($R = 0,39$), достаточно интенсивный, но значительно уступающий по площади изоферменту с $R = 0,30$. Через двое суток его интенсивность несколько снижалась, через трое — она была едва заметной, а к шестым суткам эксперимента — не определялась. Фракция с $R = 0,30$, значительно увеличенная в начале эксперимента, постепенно уменьшалась по площади, оставаясь к 6 сут более интенсивно окрашенной, чем в контроле. К 14 сут ее размеры и интенсивность достигали уровня, определяемого у здоровых животных.

Данные, представленные на рис. 2, показывают, что при частичной экстирпации печени, пораженной скормливанием животных дезоксихолевой кислотой, уже в первые сутки активность ЩФ резко повышалась. Так, по сравнению с показателями контрольных групп (здоровых животных и с лапаротомией), активность была выше в 3,7 раза, а по сравнению с животными с поражением печени дезоксихолевой кислотой без частичной экстирпации, активность ЩФ повышалась в 1,6 раза. Через 3 сут активность фермента у животных с поражением печени дезоксихолевой кислотой без экстирпации несколько снижалась, у животных с частичной гепатэктомией в указанный срок сохранялись высокие показатели активности. Через 6 сут активность ЩФ в подопытной группе заметно снижалась по сравнению с первыми тремя сутками, однако превышала показатели здоровых животных в два раза. Через 2 нед из шести животных у двух активность фермента определялась в пределах верхних границ показателей здоровых животных, а у двух — на 63 и 19% выше контроля. Через месяц активность ЩФ не отличалась от наблюдаемой у животных контрольных групп.

У животных с частичной экстирпацией печени на фоне ее поражения дезоксихолевой кислотой, как и у животных с поражением печени дезоксихолевой кислотой без частичной экстирпации, в изоферментном спектре ЩФ сыворотки крови, в отличие от наблюдаемого у контрольных животных (здоровых), определяли две фракции с $R = 0,30$ и $0,39$, более выраженные, чем у животных с поражением печени дезоксихолевой кислотой без частичной экстирпации. По мере восстановления функции печени, интенсивность обеих фракций постепенно уменьшалась. Через 6 сут в изоферментном спектре определяли только фракцию с $R = 0,30$, несколько более интенсивную, чем у здоровых животных и с лапаротомией. Через 2 нед интенсивность изофермента $R = 0,30$ не отличалась от наблюдаемой у животных контрольных групп.

Для решения различных проблем, связанных с функцией печени, длительное время применяли модель частичной гепатэктомии. Непосредственно после полной или частичной гепатэктомии активность фермента временно повышается в регенерирующей печени и в сыворотке крови. Показано, что повышение активности ЩФ в сыворотке крови зависит от количества удаленной паренхимы: при удалении трех долей (75%) активность фермента значительно превышала наблюдаемую в группе животных, у которых было удалено лишь 30% ткани печени [14]. Механизм этого явления связывают с гиперактивностью гепатоцитов. Цитохимически наиболее активная реакция наблюдалась через

48 ч после операции [9]. Этим данным соответствуют результаты наших исследований. Активность ЩФ повышается уже в первые сутки. В это же время повышается интенсивность изофермента с $R = 0,30$, определяемого у здоровых животных, что можно объяснить задержкой в сыворотке крови изоферментов, присутствующих в норме, в связи с уменьшением количества печеночных клеток, способных катаболизировать ЩФ.

Вместе с тем, появление через 2 сут в изоферментном спектре фракции с $R = 0,39$ в период максимального повышения общей активности фермента, можно объяснить усилением синтетических процессов регенерирующей печени, в частности усиленного синтеза ЩФ.

Повышение активности ЩФ в сыворотке крови животных с экспериментальной холемией, вызванной скормливанием дезоксихолевой кислоты, объясняется взаимодействием с клеточными мембранами желчных кислот, приводящим к их дезорганизации вследствие разрушения липидных комплексов [16]. Таким образом, появление изофермента с $R = 0,39$ при экспериментальной холемии можно объяснить тем, что ЩФ, входящая в липопротеидные комплексы наружных мембран гепатоцитов, может непосредственно высвобождаться из них при значительно повышенном содержании желчных кислот в сыворотке крови.

Сопоставление активности ЩФ после частичной экстирпации печени у здоровых животных с наблюдаемой при поражении ее, вызванном дезоксихолевой кислотой, показало, что у животных с предшествующим поражением печени не только более резко повышается активность фермента, но и удлиняется время ее нормализации.

Значительные различия отмечены в изоферментном спектре ЩФ сыворотки крови. В то время, как у здоровых животных с частичной гепатэктомией фракция с $R = 0,39$ появлялась на вторые сутки и на третьи не определялась, у животных с частичной экстирпацией печени, пораженной дезоксихолевой кислотой, эта фракция наблюдалась с первых суток, определялась в течение трех суток и была значительно интенсивнее, чем у животных сравняемой группы.

Выводы

1. Частичная гепатэктомия у крыс приводит к повышению общей активности ЩФ в сыворотке крови. В период максимального повышения активности ЩФ, кроме увеличения интенсивности изофермента, присутствующего в норме, наблюдается появление нового, не характерного для здоровых животных.

2. Скармливание крысам дезоксихолевой кислоты увеличивает общую активность ЩФ в сыворотке и активность изофермента, присутствующего в норме, а также приводит к появлению изофермента с большей электрофоретической подвижностью.

3. При частичной экстирпации печени, пораженной дезоксихолевой кислотой, общая активность ЩФ в также интенсивность ее изоферментов повышается в большей степени, чем при частичной экстирпации здоровой печени; задерживается нормализация показателей активности ЩФ.

Литература

1. Пирс В. Гистохимия теоретическая и прикладная.— М.: ИЛ, 1962.—344 с.
2. Радзевич И. М., Онойко В. К., Касаткина М. Г., Шкурова О. С. Ферменты печени и сыворотки крови в процессах регенерации в эксперименте.—Вопросы экспериментальной и клинической гепатологии. Тернополь, 1976, с. 97—99.

3. Сидорова В. Ф., Рябина З. А., Лейкина Е. М. Регенерация печени у млекопитающих.— Л.: Медицина, 1966.—203 с.
4. Солопаев Б. П., Коваленко И. А., Садовникова В. В., Ермакова Г. А., Горбачев Г. С., О механизмах репаративной регенерации патологически измененной печени.— Бюл. эксперим. биол. и мед., 1973, № 11, с. 50—56.
5. Яворський І. Г. Ізоферменти лужної фосфатази в сироватці крові білих щурів за експериментального ураження печінки й жовчних шляхів.— Укр. біохім. журн., 1971, 43, № 2, с. 254—257.
6. Bessey O., Lowry O., Brock M. A method for the determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum.— J. biol. chem., 1946 N 2, 164, p. 321—327.
7. Bornig H., Stepak J., Hork A., Geirtler R., Theiele C., Vecerek B. Intracelluläre Verteilung der alkalischen Phosphatase der Ratte Leber und ihr Verhalten nach Unterbindung des Ductus choledochus.— Hoppe Seyler's Z. physiol. chem. 1967, 348, p. 1311—1318.
8. Foliot A., Petite J. M., Husson J. M., Etienne J. P., Housset E. Inhibition des phosphatases alcalines sériques par le l-phenylalanine. Etude expérimentale chez le rat.— Biologie et gastroenterologie, 1972, N 9, p. 135—143.
9. Gawlik L., Najberg G., Aleksandrowicz W. I. E. The activity of alkaline phosphatase in the progress of regeneration of rat liver.— Folie histochem et cytochem., 1976, 14, N 2, p. 91—97.
10. Higgins G. M., Andersen E. M. Experimental pathology of the liver.— Arch. pathol., 1931, N 12, p. 186—202.
11. Hodson A. W., Lather A. L. Isoenzymes of alkaline phosphatase.— Clin. chim. acta, 1962, 7, N 1, p. 1—16.
12. Jackson S. H. The effect of lead ingestion on intestinal and serum alkaline phosphatase in rats.— J. biol. chem., 1952, 198, N 2, p. 559—564.
13. Kaplan M. M., Righetti A. Induction of liver alkaline phosphatase by duct ligation.— Biochem., biophys. acta, 1968, 184, p. 1311—1318.
14. Karon H. Morphological and functional changes of the rat liver after its partial hepatectomy.— Pat. pol., 1972, N 23, p. 525—529.
15. Keiding N. R. Phosphatase isoenzymes in human serum.— Scand J. clin. invest., 1974, 33, N 1, p. 1—8.
16. Palmer R. H. Bile acids, liver injury, and liver disease.— Arch. intern. med., 1972, 130, N 4, p. 606—617.
17. Pekarty I., Sort J., Lansiny A., Lieberman J. Function and control of liver alkaline phosphatase.— J. biol. chem., 1972, 247, N 6, p. 1767—1774.
18. Pilo B., Asnani M. V., Shah R. V. Studies on wound healing and repair in pigeon liver. III. Histochemical studies on the acid and alkaline phosphatases during the processes.— J. animal morphol. and physiol., 1972, 19, N 2, p. 205—212.

Киевский институт инфекционных болезней

Поступила в редакцию
30.III 1978 г.

M. G. Kasatkina

ACTIVITY AND ISOENZYME SPECTRUM OF ALKALINE PHOSPHATASE IN BLOOD SERUM OF RATS WITH PARTIAL HEPATECTOMY

Summary

Total activity and isoenzyme spectrum of rat blood serum alkaline phosphatase (AP) were studied in the regeneration process after partial liver extirpation in healthy animals and in those with liver affection. Maximum rise in the AP activity is established to occur on the 2nd-3rd day of the experiment. In this period in the AP isoenzyme spectrum there appears isoenzymes of cytomembrane origin not typical of the spectrum of healthy animals. Under conditions of partial extirpation of the liver, damaged with deoxycholic acid, normalization of AP activity is delayed.

Institute of Infectious Diseases, Kiev

УДК 616—006—092.9:615.276.4:612.353.2

И. Г. Векслер, В. Н. Рябуха, В. П. Ананенко

РАДИОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ НЕКОТОРЫХ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Известно, что печень выполняет основную антитоксическую функцию в организме и активно участвует в обменных процессах. Кроме того, печень имеет непосредственное отношение к выработке антигенного материала, к обеспечению энергетическими и пластическими ресурсами иммунного ответа организма.

Различные патологические процессы, в том числе опухолевый рост, сопровождаются нарушением функционального состояния печени, а лучевая и химиотерапия опухолей нередко являются причиной иммунодепрессии организма и токсического поражения печени [1, 8, 12]. Поэтому проблема ослабления иммунодепрессии и восстановления реактивности организма в процессе лекарственного и лучевого лечения злокачественных новообразований непосредственно связана с нормализацией функционального состояния печени.

С целью направленного воздействия на реактивность организма в онкологии за последние годы предложены различные средства, в том числе дрожжевой полисахаридный комплекс зимозан и синтетический иммуностимулятор тилорон [1, 2, 9, 16, 19].

Ранее нами [5] было установлено, что у кроликов с внутримышечной карциномой Брауна — Пирс резко возрастает время максимального накопления коллоидного раствора ^{198}Au и снижается скорость его поглощения ретикуло-эндотелиальными клетками печени, тогда как на фоне введения зимозана эти показатели в значительной степени нормализуются. Однако вопрос о влиянии иммуностимуляторов на функциональное состояние печени в целом не подвергался детальному изучению. Задачей настоящего исследования явилось сравнительное радиометрическое изучение влияния зимозана и тилорона на функциональное состояние гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных клеток печени кроликов с карциномой Брауна — Пирс.

Методика исследований

Опыты проведены на здоровых кроликах и на кроликах с подкожно привитой опухолью Брауна — Пирс. Всего использовано 47 животных (самцов) весом 2—2,5 кг. Животные были распределены на следующие группы: I — здоровые кролики без опухоли (норма); II — нелеченные кролики с опухолью (контроль); III — кролики с опухолью, леченные зимозаном; IV — кролики с опухолью, леченные тилороном.

Введение иммуностимуляторов осуществлялось с восьмого дня после перевивки, когда опухоли четко пальпировались. В опытах использовался ампулированный зимозан, который вводили внутримышечно в дозе 5 мг/кг трижды с интервалом 4—5 дней. Тилорон [3] вводили перорально в дозе 50 мг/кг трижды с тем же интервалом.

О функциональном состоянии печени судили на основании исследования функции клеток печени (гепатоцитов) с помощью бенгальской розы, меченной радиоактивным йодом (Br^{131}I), и ретикуло-эндотелиальных (купферовских) клеток с помощью коллоидного раствора радиоактивного золота ^{198}Au .

Для исследования функции клеток печени готовый препарат краски Br^{131}I вводили кроликам внутривенно из расчета $1,5\text{--}2\text{ мкКи/кг}$. Показателями функционального состояния были время максимального накопления Br^{131}I в печени и время ее полувыведения. При исследовании функции купферовских клеток коллоидный раствор ^{198}Au вводили внутривенно из расчета $2\text{--}2,5\text{ мкКи/кг}$. Критериями служили показатель крутизны подъема паренхиматозного сегмента — «угол поглощения» в градусах, характеризующий скорость поглощения ^{198}Au ретикуло-эндотелиальными клетками, и время максимального накопления радиоактивного золота в минутах (появление плато на гепатограмме).

Исследования функционального состояния печени подопытных животных проводили на 21—23 день после перевивки опухоли на радиодиагностической установке ДСУ с одним коллимированным датчиком (диаметр входного отверстия 30 мм) и одноканальным самопишущим прибором типа Н-370 АМ.

Результаты исследований и их обсуждение

В таблице представлены данные о функциональном состоянии клеток РЭС печени кроликов после внутривенного введения ^{198}Au и гепатоцитов печени после введения Br^{131}I .

Полученные результаты указывают на нарушения функционального состояния ретикуло-эндотелиальных клеток печени у нелеченых кроликов с опухолью Брауна — Пирса (контроль). Об этом свидетельствует снижение скорости поглощения радиоактивного золота (более пологий подъем кривой и уменьшение «угла поглощения» с $74,4 \pm 2,46^\circ$ в норме до $64,2 \pm 2,11^\circ$), а также времени максимального накопления ^{198}Au в печени (с $5,0 \pm 0,29$ мин в норме до $9,4 \pm 0,85$ мин, $p < 0,01$). У кроликов с опухолью, которым вводили зимозан, происходит стати-

Характеристика функционального состояния клеток РЭС и гепатоцитов печени кроликов по данным исследований с радиоактивным ^{198}Au и бенгальской розой, меченной ^{131}I

Показатель	Здоровые кролики	Кролики с карциномой Брауна—Пирс		
		нелеченые (контроль)	зимозан	тилорон
Клетки РЭС				
$T_{\text{макс}}$	$5,0 \pm 0,29$	$9,4 \pm 0,85$	$7,2 \pm 0,36$	$6,0 \pm 0,69$
p	—	$< 0,01$	$< 0,01$	$> 0,05$
p_1	—	—	$< 0,05$	$< 0,01$
p_2	—	—	—	$> 0,05$
Угол поглощения	$74,4 \pm 2,46$	$64,2 \pm 2,11$	$73,0 \pm 0,95$	$78,8 \pm 2,05$
p	—	$< 0,01$	$> 0,05$	$> 0,05$
p_1	—	—	$< 0,01$	$< 0,01$
p_2	—	—	—	$< 0,05$
Гепатоциты				
$T_{\text{макс}}$	$7,9 \pm 0,74$	$13,6 \pm 1,45$	$9,0 \pm 0,36$	$9,1 \pm 0,78$
p	—	$< 0,01$	$> 0,05$	$> 0,05$
p_1	—	—	$< 0,02$	$< 0,05$
p_2	—	—	—	$> 0,05$
$T_{1/2}$	$28,9 \pm 1,72$	$37,0 \pm 2,32$	$31,9 \pm 1,23$	$25,3 \pm 1,27$
p	—	$< 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$
p_1	—	—	$> 0,05$	$< 0,01$
p_2	—	—	—	$< 0,01$

Примечание. p — достоверность по отношению к норме; p_1 — к опухолевому контролю; p_2 — к зимозану; $T_{\text{макс}}$ — время максимального накопления изотопа I в мин; $T_{1/2}$ — время полувыведения Br^{131}I в мин.

стически значимое по сравнению с нелечеными животными уменьшение времени максимального накопления ^{198}Au клетками печени (с $9,4 \pm 0,85$ мин до $7,2 \pm 0,36$ мин, $p_1 < 0,05$). «Угол поглощения» при этом увеличивается с $64,2 \pm 2,11$ до $73,0 \pm 0,95^\circ$, приближаясь к соответствующему показателю в норме ($p < 0,05$).

Значительный интерес, с нашей точки зрения, представляют результаты, полученные при изучении функционального состояния клеток РЭС печени кроликов после введения тилорона. Из табл. 1 видно, что у кроликов с карциномой Брауна — Пирс после применения тилорона функциональная активность клеток РЭС печени восстанавливается почти до нормального уровня. Так, время максимального накопления ^{198}Au у этих животных составляет $6,0 \pm 0,69$ мин ($p > 0,05$), а «угол поглощения» — $78,8 \pm 2,05^\circ$. Некоторое увеличение «угла поглощения» у животных, получавших тилорон, по сравнению с нормой оказалось статистически недостоверным ($p > 0,05$).

Как видно из таблицы, у нелеченых животных с опухолью резко увеличивается время накопления и полувыведения Br^{131}I печенью. Если у здоровых кроликов эти показатели составляют $7,9 \pm 0,74$ и $28,9 \pm 1,72$ мин соответственно, то при росте карциномы Брауна — Пирс время максимального накопления гепатоцитами Br^{131}I возрастает в 1,7 раза (до $13,6 \pm 1,45$ мин, $p < 0,01$), а период полувыведения — в 1,3 раза (до $37,0 \pm 2,32$ мин, $p < 0,05$).

У кроликов с карциномой Брауна — Пирс, которым вводили зимозан, время максимального накопления Br^{131}I значительно сокращается (до $9,0 \pm 0,36$ мин) по сравнению с соответствующим показателем у нелеченых животных ($p_1 < 0,02$). При этом уменьшается время полувыведения красителя до $31,9 \pm 1,23$ мин.

Под влиянием тилорона время максимального накопления Br^{131}I гепатоцитами печени животных с опухолью также значительно уменьшается, составляя $9,1 \pm 0,78$ мин ($p_1 < 0,05$), а время полувыведения красителя — до $25,3 \pm 1,27$ мин ($p_1 < 0,01$), статистически существенно отличаясь от показателей в контроле. Полученные данные говорят о том, что процесс накопления Br^{131}I клетками печени животных с опухолью под влиянием тилорона и зимозана нормализуется в равной степени, тогда как нормализующий эффект тилорона на процесс выведения красителя проявляется ярче, чем зимозана.

При обсуждении полученных результатов прежде всего необходимо подчеркнуть то обстоятельство, что хотя тилорон и зимозан по своему происхождению и химическому строению принадлежит к совершенно различным классам соединений, оба эти вещества обладают широким и во многом сходным спектром биологического действия. Так, диэтиламиновое производное флуорена — тилорон в определенных дозах стимулирует ретикуло-эндотелиальную систему, усиливает выработку 19 S-иммуноглобулинов, повышает фагоцитарный потенциал организма, тормозит рост ряда перевивных и индуцированных опухолей, защищает животных от бактериальных и вирусных агентов, ослабляет иммунодепрессивное влияние химических канцерогенов, усиливает цитотоксическое действие противоопухолевых препаратов и др. [9, 16, 19 и др.]. При многократном пероральном введении тилорона у онкологических больных повышается содержание общего белка сыворотки крови и не нарушается ферментативная активность печени [21].

Подобным действием обладает и биополимер дрожжевых оболочек — зимозан, который при парентеральном введении в малых дозах повышает фагоцитарные свойства элементов РЭС [17], усиливает пролиферацию купферовских клеток печени [18], увеличивает содер-

жание специфических антител [13], тормозит рост экспериментальных новообразований или ускоряет их рассасывание [4, 14], повышает резистентность животных к инфекциям [20].

Под влиянием зимозана у больных со злокачественными новообразованиями и хроническими заболеваниями желудочно-кишечного тракта повышается биосинтез β и γ -глобулинов сыворотки крови [7], стимулируется образование свободных SH-групп в печени, увеличивается фагоцитарная функция внепеченочной части РЭС и ретикуло-эндотелиальных клеток печени [7, 10].

Приведенные данные литературы позволяют с полной уверенностью констатировать, что под влиянием тилорона и зимозана стимулируется синтез специфических белков в клетках печени и других элементах РЭС. Подобное увеличение синтеза белков наблюдается и под влиянием некоторых бактериальных полисахаридов, чем объясняется не только их адъювантное действие, но и свойство увеличивать пластическую и дезинтоксикационную функцию печени [6, 15]. При этом под влиянием полисахаридов резко возрастает энергетический обмен в клетках печени и других органах [11], а это означает, что в клетках печени увеличивается энергетическая база для повышения функциональной активности.

Учитывая изложенное, можно предположить, что в основе выявленного нами повышения функционального состояния гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных клеток печени животных с растущей опухолью под влиянием зимозана и тилорана лежат те же механизмы, что и при действии некоторых бактериальных полисахаридов.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что подкожно растущая карцинома Брауна — Пирс понижает функциональную активность гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных клеток печени кроликов, а полисахарид зимозан и синтетический иммуностимулятор тилорон оказывают определенное нормализующее действие на функциональное состояние печени. В наших экспериментах нормализующий эффект тилорона на функциональное состояние гепатоцитов выражен более отчетливо, чем зимозана.

Полученные данные являются, на наш взгляд, экспериментальным обоснованием для более широкого и целенаправленного применения зимозана и тилорона в комплексной терапии злокачественных новообразований.

Выводы

1. У кроликов с подкожно растущей карциномой Брауна — Пирс снижена скорость поглощения и увеличено время накопления радиоактивного золота ^{198}Au ретикуло-эндотелиальными клетками печени. У этих животных также значительно увеличено время максимального накопления бенгальской розы, меченной ^{131}I , гепатоцитами печени и период ее полувыведения.

2. Под влиянием зимозана и тилорона у животных с опухолью Брауна — Пирс, судя по данным радиометрического исследования, происходит частичное восстановление функциональной способности гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных клеток печени.

3. Нормализующее действие зимозана и тилорона на функциональное состояние гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных клеток печени выражено почти одинаково, однако процесс полувыведения БР ^{131}I гепатоцитами печени происходит быстрее под влиянием тилорона, чем под влиянием зимозана.

Литература

1. Балицкий К. П., Векслер И. Г. Реактивность организма и химиотерапия опухолей.— К.: Наукова думка, 1975.—254 с.
2. Басс-Шадхан Х. Ф. Зимозан.— Рига: Зинатне, 1970.—314 с.
3. Богатский А. В., Грень А. И., Литвинова Л. А., Лемпарт Г. В. О синтезе 2,7-бис-[2-(диэтиламино)этокси]-флуорен-9-она.— Доклады АН УССР, серия Б, 1976, № 7, с. 610—612.
4. Векслер И. Г. Влияние зимозана на некоторые защитные реакции системы соединительной ткани и опухолевый рост в эксперименте.— Вопросы экспериментальной онкологии. К.: Здоров'я, 1968, 3, с. 203—209.
5. Векслер И. Г., Ананенко В. П. Экспериментальное исследование комплексного применения АПС и зимозана в терапии злокачественных новообразований.— Онкология. К., 1978, в. 10, с. 26—31.
6. Веселкин П. В. О механизме лечебного действия пирогенала.— В кн.: Пирогенал, М.: Медицина, 1965, с. 7—16.
7. Закенфельд Г. К. Реакция глобулиновых фракций сыворотки крови больных со злокачественными опухолями, получивших зимозан и антибластические средства в сочетании с зимозаном.— В кн.: Зимозан в эксперименте и клинике. Рига: Зинатне, 1971, с. 163—169.
8. Кавецкий Р. Е. Об общих изменениях в организме при химиотерапии и их значение в ее эффективности.— В кн.: Первая Всесоюзная конференция по химиотерапии злокачественных опухолей. Рига, 1968, с. 50—53.
9. Кавецкий Р. Е., Балицкий К. П., Векслер И. Г. и др. Тилорон — синтетический иммуностимулятор, обладающий противоопухолевой активностью.— Вопросы онкологии, 1977, 23, № 11, с. 88—93.
10. Ланса Р. Х. Влияние зимозана на функцию печеночных и костномозговых элементов РЭС у больных хроническими заболеваниями желудка.— В кн.: Зимозан в эксперименте и клинике. Рига: Зинатне, 1971, с. 179—185.
11. Нейфах С. А., Здродовская Е. П. Об изменениях фосфоорганического обмена печени при перегревании и экспериментальной лихорадке.— В кн.: Ежегодник Института экспериментальной медицины АМН СССР.— Л., 1956, с. 214.
12. Пивнюк В. М. Распределение противоопухолевых химиопрепаратов в организме и их влияние на функции печени.— Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— К., 1969.—18 с.
13. Самойлина Н. Л. Действие зимозана на антителообразование у кроликов.— ЖМЭИ, 1962, 33, № 9, с. 134.
14. Струк В. И. О влиянии зимозана на некоторые показатели естественного иммунитета.— Врачебное дело, 1966, № 2, с. 73—75.
15. Учитель И. Я., Хасмаз Э. Л. О механизме адьювантного действия пирогенала.— В кн.: Пирогенал, 1965. М.: Медицина, 1965, с. 7—16.
16. Adamson R. H. Antitumor activity of tilorone hydrochloride against some rodent tumors.— J. Nat. Cancer Inst., 1971, 46, N 2, p. 431—434.
17. Gorstein F., Benaceraff B. Hyperactivity of the reticuloendothelial system and experimental anemia in mice.— Amer. J. Pathol., 1960, 37, N 5, p. 569—582.
18. Kelly L. S., Dobson E. L., Finney C. R., Hirsch J. D. Proliferation of the reticuloendothelial system in the liver.— Amer. J. Physiol., 1960, 198, p. 1134—1138.
19. Munson A. E., Munson J. A., Regelson W., Wampler G. L. Effect of tilorone hydrochloride and congeners on reticuloendothelial system, tumors, and the immune response.— Cancer Res., 1972, 32, p. 1397—1403.
20. Ross O. A. Experimental studies of the in vivo relationships of the properdine system to resistance to infection.— Amer. J. Pathol., 1958, 34, N 3, p. 471—485.
21. Wampler G. L., Kuperminc M., Regelson W. Phase I study of tilorone, a non-marrow depressing antitumor agent.— Cancer Chemotherapy Reports, 1973, 57, part 1, N 2, p. 209—217.

Институт проблем онкологии им. Р. Е. Кавецкого
АН УССР

Поступила в редакцию
26.XII 1978 г.

I. G. Veksler, V. N. Ryabukha, V. P. Ananenko

RADIOMETRIC DETERMINATION OF THE FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER CELLS WHEN APPLYING CERTAIN IMMUNOSTIMULATORS IN THE EXPERIMENT

Summary

Radiometric studies were carried out of the functional state of the liver hepatocytes and reticulo-endothelial cells in rabbits with developed Brown-Pearce carcinoma treated with a synthetic preparation tyloron and zymosan—a polysaccharide of yeast nature.

УДК 537.533.35:615.365.631

Л. И. Барченко

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ И ЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ РЕАКЦИИ ЛИЗОСОМ И КОМПЛЕКСА ГОЛЬДЖИ НА ДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ ДОЗ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ

В литературе имеется большое количество данных об эффекте действия различных цитотоксических сывороток на функцию отдельных органов и организма в целом. В то же время механизм действия этих сывороток изучен в значительно меньшей степени. В первую очередь это касается механизма стимулирующего действия на клетки малых доз цитотоксических сывороток. Детали этого интимного механизма достаточно сложны и многие его аспекты неизвестны до сих пор. С каждым годом накапливается все больше фактов о роли лизосом в различных физиологических и патологических процессах в организме. Полученные в последние годы данные свидетельствуют об участии лизосом в ряде иммунных реакций. Так например известно, что разрушение антигена в лизосомах макрофагов является необходимым условием для последующего образования антител, выявлена определенная роль лизосом в развитии аутоиммунных реакций и участие ферментов лизосом в развитии процесса анафилаксии [11, 13, 19].

Мы изучали первичную реакцию лизосомного аппарата и функционально связанного с ним комплекса Гольджи в первые часы и сутки после воздействия на клетки малых (стимулирующих) доз антител цитотоксических сывороток, т. е. фактически в процессе развития реакции антиген-антитело, которая лежит в основе всех реакций иммунитета. Описанные в литературе результаты аналогичных исследований получены в основном с использованием больших доз цитосывороток.

Для того, чтобы иметь возможность косвенно судить о функциональном состоянии изучаемых структур мы сочетали электронномикроскопическое исследование с цитохимическим изучением активности ферментов-маркеров лизосом (кислой фосфатазы и кислой рибонуклеазы) и комплекса Гольджи (тиаминпирофосфатазы). Исследования проведены на клетках культур тканей, что давало возможность непосредственно наблюдать реакцию клеток на действие антител в определенные промежутки времени.

Методика исследований

Культуры тканей семенника половозрелых крыс 4—5 мес возраста культивировали во флаконах Карреля на питательной среде, которая состояла из раствора Тироде, плазмы крови гуся и эмбрионального экстракта. Антитестикулярную цитотоксическую сыворотку (АТЦС), содержащую антитела специфичные к ткани семенника, получали посредством иммунизации кроликов водно-солевым экстрактом ткани семенника крыс. Титр антител устанавливали в реакции связывания комплемента. В исследованиях использованы сыворотки с титрами 1:320—1:400. Цитотоксическую сыворотку добавляли в жидкую питательную среду культур и дозировали в процентах от общего количества жидкой питательной среды во флаконе. Для электронномикроскопических ис-

следований культуры тканей фиксировали последовательно глутаральдегидом и 1% раствором осмиевой кислоты, при pH 7,3. Затем тотальные препараты культур проводили через спирты возрастающей крепости, ацетон и погружали в эпоксидную смолу аралдит-М. Подходящий участок для приготовления ультратонких срезов выбирали при предварительном изучении полутонких срезов, полученных с больших участков зоны роста и окрашенных 1% раствором парафенилендиамина. Срезы для электронной микроскопии толщиной 600—800 Å делали на ультрамикротоме LKB-8800 и контрастировали гидроокисью свинца по методу Рейнольдса [22]. Просмотр и фотографирование препаратов осуществляли с помощью электронного микроскопа высокого разрешения типа В-S-513-А. Активность фермента кислой фосфатазы изучали с помощью световой микроскопии на тотальных препаратах культур с выявлением активности фермента по [3] и электронногистохимически с постановкой реакции по [17]. Гистохимическую реакцию на тиаминпирофосфатазу для световой микроскопии проводили по [3], а кислую рибонуклеазу выявляли по [6].

Исследования проводили по следующей схеме: интактные культуры тканей семенника выращивали на протяжении 7—8 сут до образования хорошо развитой зоны роста. Затем в питательную среду культур добавляли АТФС в указанной дозе, флаконы с культурами помещали в термостат при 37° С и затем фиксировали через 1, 3, 6, 24, 48 и 72 ч. В питательную среду контрольных культур добавляли в той же дозе сыворотку крови неиммунизированного кролика (НКС). Часть культур оставляли интактными.

Различные типы лизосом на полученных нами электроннограммах идентифицировали посредством сравнения с [5, 11].

Результаты исследований и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что реакции клеток на действие антител цитотоксической сыворотки, примененной в малой дозе, развиваются на субклеточном уровне. Через 1 ч после начала воздействия антител в клетках появляются образования величиной 0,5—1,3 мкм, ограниченные однослойными мембранами (рис. 1, а). Внутреннее содержимое их электроннопрозрачно с ободком более электронноплотного вещества по краю. Гораздо реже встречаются образования с электронноплотным содержимым — зернистым или гомогенным. Эти структуры располагаются чаще в перинуклеарной зоне вблизи комплекса Гольджи, количество их в клетках сильно варьирует. Структуры подобного характера строения и в таком количестве не встречаются в интактных клетках культур тканей семенника и в клетках контрольных культур после действия НКС. Поскольку при электронногистохимической реакции такие структуры не обнаруживали активности кислой фосфатазы, то можно предположить, что они являются прелизосомами (согласно классификации Де Дюва, приведенной в [11]), которые содержат пиноцитированный материал. Спустя 3 ч эти структуры встречались лишь в небольшом количестве клеток и в дальнейшем сроки исследования не наблюдались.

При световой микроскопии активность кислой фосфатазы в клетках подопытных культур через 1 и 3 ч после начала воздействия антител была повышенной. Это выражалось в увеличении количества окрашенных гранул, соответствующих местам локализации фермента в лизосомах. Обращает также внимание нередко наблюдаемая в клетках подопытных культур интенсивная реакция на кислую фосфатазу в части перинуклеарной зоны, соответствующей месту локализации комплекса Гольджи в этих клетках (рис. 2, а, б). В течение первых часов после начала воздействия антител в клетках наблюдается усиление активности фермента кислой рибонуклеазы, также локализованного в лизосомах (рис. 2, в, г). При электронномикроскопическом исследовании обнаружено, что в перинуклеарной зоне вокруг места расположения комплекса Гольджи в течение первых шести часов после начала воздействия антител количество первичных лизосом увеличивается в сравнении с контрольными культурами. В дальнейшем в клетках коли-

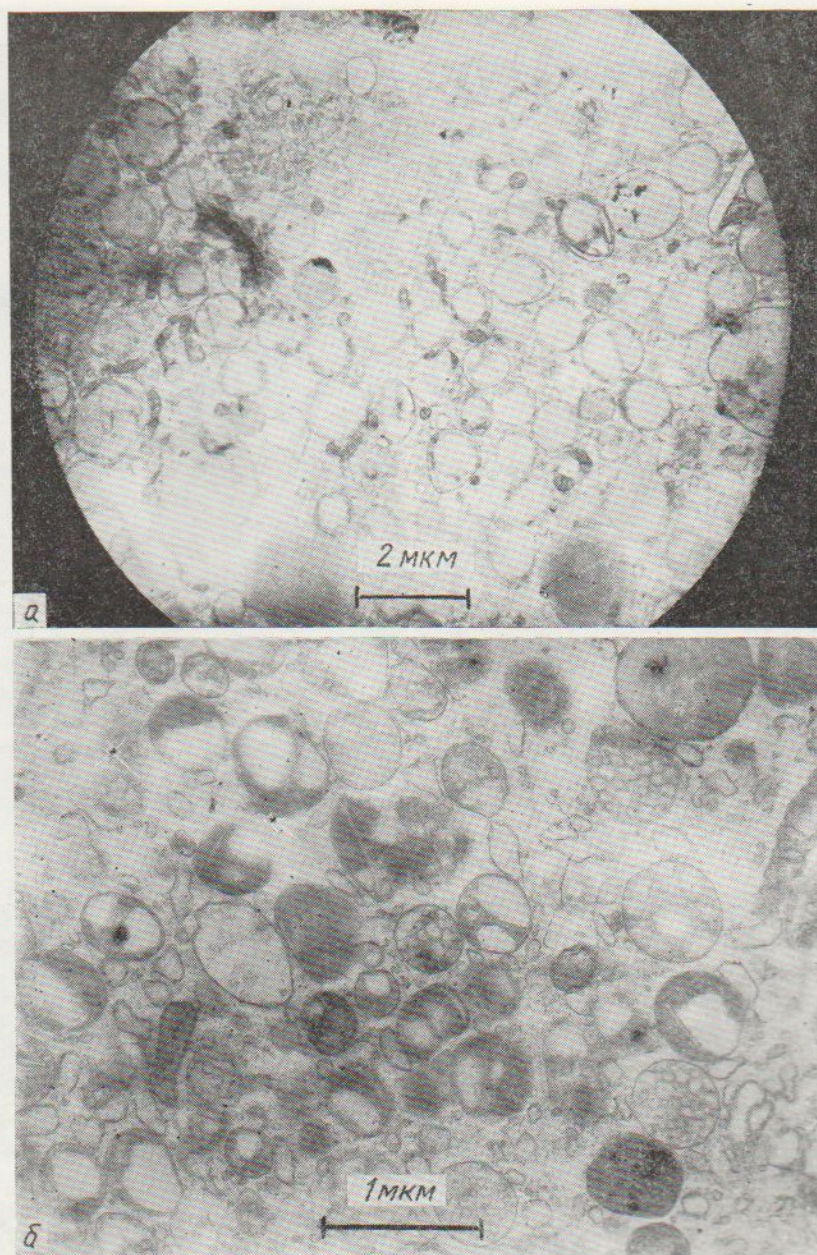


Рис. 1. Лизосомы разных типов в цитоплазме клеток после воздействия антител.

а — прелизосомы в цитоплазме клетки через 1 ч после контакта клеток с антителами;
б — скопление лизосом типа постлизосом или остаточных телец в эктоплазматической зоне клетки через 48 ч после начала воздействия антител.

чество лизосом разных типов увеличивается, в том числе много аутофагосом, внутри которых заключены целые митохондрии, части эндоплазматического ретикулума и т. д. Через 48 и 72 ч в эктоплазматической зоне отдельных клеток можно наблюдать целые скопления структур, которые по морфологическим признакам можно отнести к

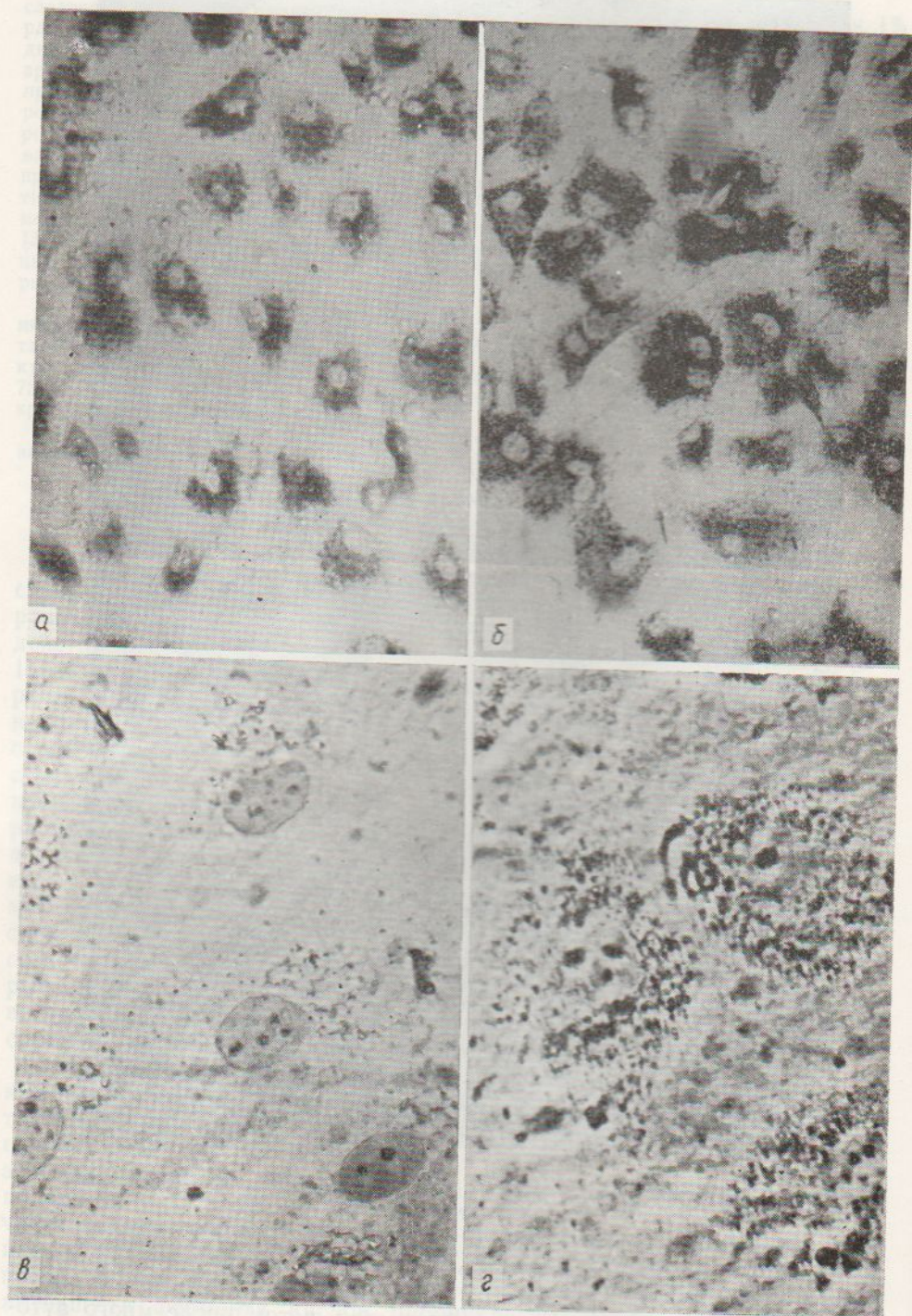


Рис. 2. Повышение активности ферментов кислой фосфатазы (а — контроль, б — опыт; об. 10×Ок. 7,5) и кислой рибонуклеазы (в — контроль, г — опыт; об. 16×Ок. 7,5) в клетках культур тканей семенника через 3 ч после начала воздействия антител.

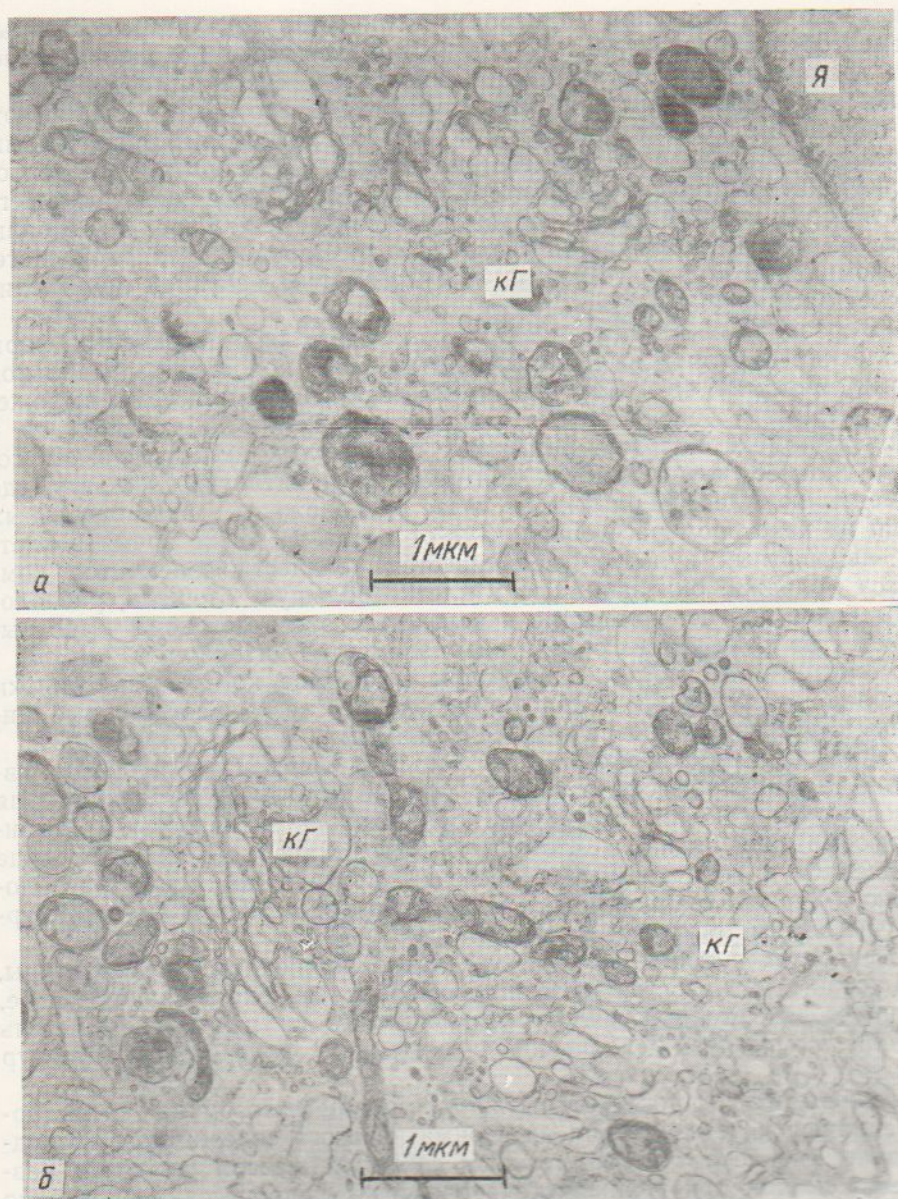


Рис. 3. Увеличение размеров и количества структурных элементов комплекса Гольджи после воздействия антител.

а — контроль, б — опыт; КГ — комплекс Гольджи, я — ядро.

типу постлизосом или остаточных телец (рис. 1, б). Согласно современным представлениям, остаточные тельца являются последним этапом в цепи внутриклеточного переваривания экзогенных и эндогенных веществ, происходят от фаголизосом и аутофаголизосом и содержат остатки веществ, подлежащих удалению из клетки [5].

В процессе развития реакции антиген-антитело заметные изменения наблюдаются также в структуре функционально связанного с лизосомами комплекса Гольджи. Эти изменения выражаются преиму-

щественно в увеличении размеров и количества отдельных составных элементов этой органеллы. Как известно, комплекс Гольджи образован тремя видами структурных компонентов: системой собранных в пачки уплощенных цистерн, микропузырьками, которые располагаются обычно на концах уплощенных цистерн, и крупными вакуолями. Через час после начала воздействия антител наблюдается умеренное расширение цистерн комплекса Гольджи с образованием большего чем в норме количества микропузырьков вокруг них. Через 3 ч в большинстве клеток наблюдается увеличение размеров вакуолярной системы комплекса Гольджи (рис. 3, а, б). Развитие вакуолей происходит за счет расширения цистерн.

В различных клетках удается проследить ряд переходных форм от плоских параллельных цистерн до крупных полостей неправильной формы. Через 24, 48 и 72 ч расширение вакуолярной системы выражено в меньшей степени, чем в предыдущие сроки наблюдения, но в целом комплекс Гольджи в клетках подопытных культур развит гораздо сильнее, чем в клетках контрольных и интактных культур, где элементы комплекса Гольджи на срезе расположены в виде отдельных групп на некотором расстоянии друг от друга. В то же время в клетках подопытных культур увеличивается количество элементов комплекса Гольджи, они занимают в клетке большую площадь, расположены более плотно, компактно и вследствие этого органоид четко выделяется на фоне других структурных элементов цитоплазмы.

Через 24, 48 и 72 ч наблюдения в составе комплекса Гольджи преобладают пузырьки и хорошо развитые, слегка расширенные цистерны с электроннопрозрачным содержанием.

Характерным для комплекса Гольджи ферментом-маркером является тиаминпирофосфатаза. При гистозиматической реакции для световой микроскопии структуры, обладающие активностью тиаминпирофосфатазы, видны в клетках культур тканей семенника в виде окрашенной в коричневый цвет сеточки, которая по своему расположению в перинуклеарной зоне и конфигурации соответствует структурным элементам комплекса Гольджи.

В клетках подопытных культур можно наблюдать, что структуры, обладающие активностью тиаминпирофосфатазы, окрашиваются ярче, петли сеточки утолщаются, а расположенные на пересечении петель вакуоли крупнее в сравнении с клетками контрольных культур (рис. 4 а, б).

В первые годы после открытия Де Дювом лизосом как структурной единицы и установления их энзиматического содержимого господствовало мнение о том, что главная функция лизосом состоит в разрушении клеток при различных патологических процессах. Однако по мере накопления фактов была выяснена важная роль лизосом в различных физиологических процессах в организме. Наряду с участием во многих процессах жизнедеятельности (внутриклеточное пищеварение, аутолиз, секреторная деятельность) лизосомы играют важную роль в защитных реакциях клетки. Исследования, проведенные на современном методическом уровне с применением электронной микроскопии и метки введенных веществ изотопами или красителями, показали, что проникшие в клетку чужеродные вещества в дальнейшем обнаруживаются в лизосомах [8, 9, 10]. Разрушение в лизосомах захваченных веществ имеет значение для защитных реакций не только клетки, но и организма в целом.

Как было сказано выше, разрушение антигенов в лизосомах является одним из условий дальнейшего образования антител. Деятельность

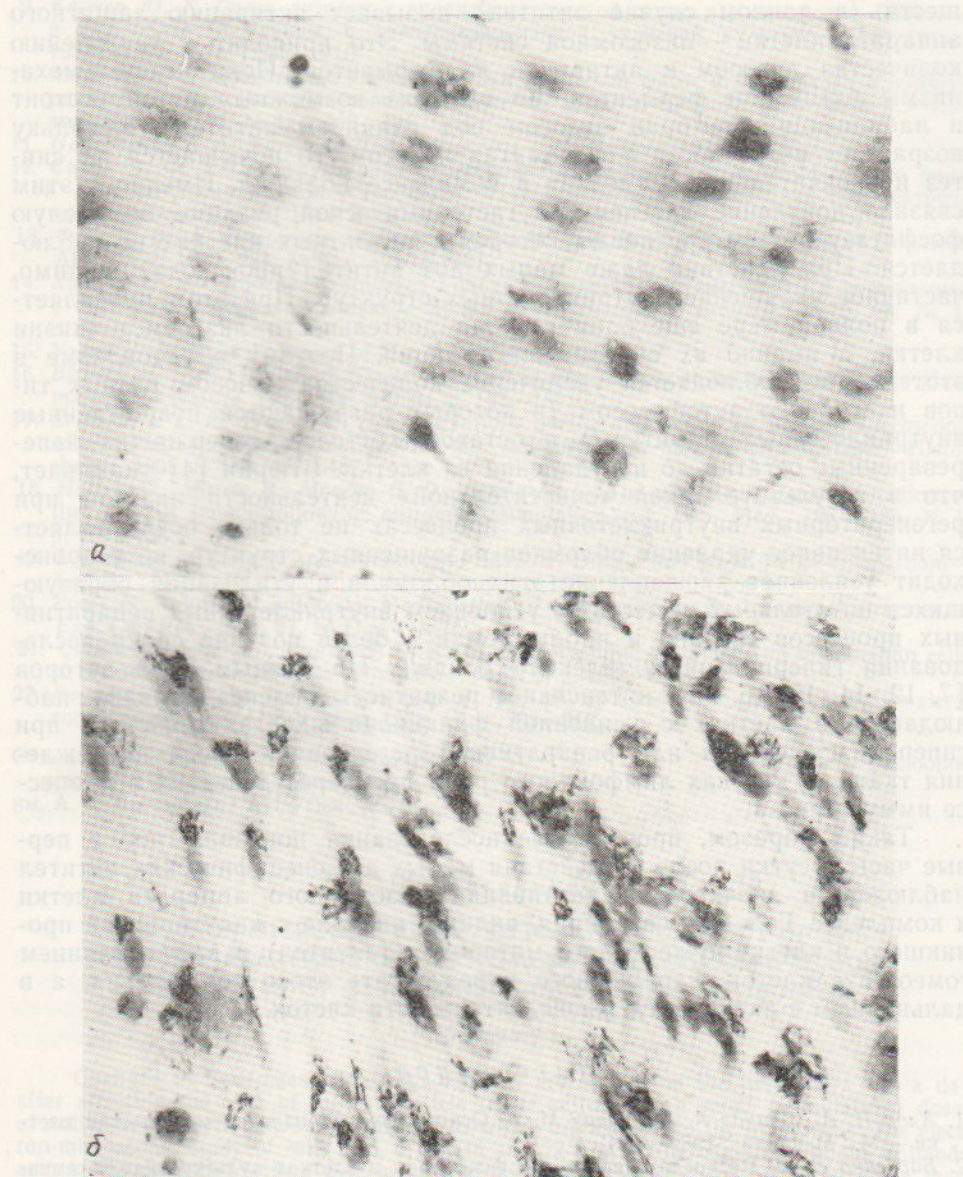


Рис. 4. Повышение активности фермента тиаминпирофосфатазы в клетках культур тканей семенника через 3 ч после начала воздействия антител.
а — контроль, б — опыт. Об. 10×Ок. 7,5.

лизосом как защитного аппарата клетки активируется при различных воздействиях, в том числе и при иммунных реакциях [2, 19, 20, 21].

Лизосомная система функционально связана с комплексом Гольджи, через который проходят ферменты лизосом, синтезированные на рибосомах эндоплазматического ретикулума, и который принимает участие в формировании первичных лизосом, содержащих эти ферменты [1].

В свете этих данных полученные нами результаты можно трактовать следующим образом: проникновение в клетку чужеродных ве-

ществ (в данном случае антител) вызывает активацию защитного аппарата клетки — лизосомной системы. Это приводит к увеличению количества лизосом и активации их ферментов. Пока неясны механизмы активации ферментов, но один из возможных путей состоит в лабильности мембран лизосом под влиянием антител. Поскольку возрастает потребность в ферментах лизосом, то повышается их синтез и окончательная «отделка» в комплексе Гольджи. Именно с этим связано появление интенсивной гистохимической реакции на кислую фосфатазу в этом органоиде, которая в интактных клетках не наблюдается. При действии даже малых доз антител происходит, видимо, частичное нарушение внутриклеточных структур. При этом проявляется в полной мере еще одна сторона деятельности лизосом в жизни клетки, а именно их санитарная функция. Поэтому в цитоплазме в этот период наблюдается увеличение количества лизосом разных типов и особенно аутофагосом (в которых разрушаются поврежденные внутриклеточные структуры) и остаточных телец, содержащих непереваренные остатки до их удаления из клетки. Втюрин [4] указывает, что в результате такой «очистительной» деятельности лизосом при регенераторных внутриклеточных процессах не только осуществляется интенсивное удаление обломков разрушенных структур, но и происходит усиленное расщепление этих обломков и утилизация образующихся питательных веществ. С усилением внутриклеточных репаративных процессов связана и наблюдаемая в более поздние сроки исследования гиперплазия комплекса Гольджи. По данным ряда авторов [7, 12, 14, 15, 16, 18], интенсивное развитие комплекса Гольджи наблюдается в клетках с усиленной функциональной активностью: при гиперплазии органа или репаративной регенерации после повреждения ткани, в клетках лимфоидного ряда при перестройке их в процессе иммуногенеза.

Таким образом, проведенные исследования показали, что в первые часы и сутки после воздействия малых доз специфических антител наблюдается значительная активация лизосомного аппарата клетки и комплекса Гольджи связанная, видимо, вначале с инактивацией проникшего в клетку чужеродного материала (антител) и выравниванием гомеостаза клеток, нарушенного в результате этого воздействия, а в дальнейшем с активацией жизнедеятельности клеток.

Литература

1. Алов И. А., Брауде А. И., Аспиз М. Е. Основы функциональной морфологии клетки.— М.: Медицина, 1969.—341 с.
2. Барченко Л. И. Распределение кислой фосфатазы в клетках культур тканей семенника и яичника после воздействия различных доз антителикулярной и антиварикальной цитотоксических сывороток.— Цитотоксины в соврем. медиц., вып. 6, Киев: Здоров'я, 1972, с. 66—71.
3. Берстон М. Гистохимия ферментов.— М.: Мир, 1965.—438 с.
4. Втюрин Б. В. Значение лизосом в деструктивных и регенераторных внутриклеточных процессах.— Тез. докл. VIII Всесоюзной конференции по электронной микроскопии. М., 1971, 3, с. 52.
5. Втюрин Б. В., Орлов Г. Н. Некоторые вопросы функциональной морфологии лизосом.— Архив патологии, 1971, 33, № 4, с. 8—17.
6. Глузман Д. Ф. Энзимогистохимическое исследование клеток крови и кроветворных органов при лейкозах человека и млекопитающих: Автореф. дис. ... докт. мед. наук.— Киев, 1974.—34 с.
7. Дмитриева Н. П. Электронномикроскопическое изучение комплекса Гольджи в гиперплазированной и малигнизированной эпителиальной клетке.— Цитология, 1972, 14, № 1, с. 13—18.
8. Кирьянова Е. А., Зеленин А. В. Некоторые закономерности накопления инородных для клетки веществ в лизосомах.— Доклады АН СССР, 1970, 190, № 2, с. 451—455.

9. Кярнер Ю. К. Связь лизосом с эндоплазматической сетью и с аппаратом Гольджи в фибробластах курицы в трапсинизированной тканевой культуре.— Цитология, 1971, 13, № 10, с. 1204—1210.
10. Мойжесс Т. Г. Некоторые характеристики процессов фаго- и пиноцитоза в культурах нормальных фибробластоподобных клеток мыши и фибробластов линии L.— Цитология, 1969, 11, № 4, с. 493—498.
11. Покровский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы.— М.: Наука, 1976.—368 с.
12. Салов В. Ф. Ультраструктурная перестройка некоторых клеток лимфоидного ряда в процессе иммуногенеза.— Тез. докл. VIII Всесоюзной конференции по электронной микроскопии, М., 1971, 3, с. 81.
13. Фролов В. А. Лизосомы миокарда морской свинки при анафилактики.— Доклады АН СССР, 1977, 234, № 5, с. 1220—1221.
14. Хилова Ю. К. Строение комплекса Гольджи в клетках интимы аорты в нормальных и экспериментальных условиях.— Архив анат., гистол. и эмбриол., 1975, 68, № 1, с. 43—45.
15. Уэйли У. Аппарат Гольджи.— М.: Мир, 1978.—245 с.
16. Birbeck M. S. C., Hall J. G. Transformation in vivo of basophilic lymph cells into plasma cells.— Nature, 1967, 214, N 5084, p. 183—185.
17. Ericsson I. L. E., Trumpf B. F. Observations on the application of electron microscopy of the lead phosphate technique for the demonstration of acid phosphatase.— Histochemie, 1965, N 4, p. 470—487.
18. Hall J. G., Morris B., Moreno G. D., Bessis M. C. The ultrastructure and function of the cells in lymph following antigenic stimulation.— J. Exp. Med., 1967, 125, N 1, p. 101—106.
19. Lysosomes in Biology and Pathology. / Ed. J. T. Dingle and H. B. Fell.— Amsterdam—London: North-Holland Publishing company, 1969, 2, part 1.—668 p.
20. Poste G. Sub-lethal autolysis. Modification of cell periphery by lysosomal enzymes.— Exp. Cell Res., 1971, 67, N 1, p. 11—16.
21. Quash G., Delain E., Hupper J. Effect of antipolyamine antibodies on mammalian cells in tissue culture.— Exp. Cell Res., 1971, 66, N 2, p. 426—429.
22. Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque strain in electron microscopy.— J. Cell Biol., 1963, 17, p. 208—212.

Отдел иммунологии и цитотоксических
сывороток Института физиологии
им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
15.VI 1979 г.

L. I. Barchenko

ELECTRON-MICROSCOPIC AND CYTOCHEMICAL STUDY OF THE PRIMARY REACTIONS OF LYSOSOMES AND GOLGI COMPLEX ON THE EFFECT OF SMALL DOSES OF SPECIFIC ANTIBODIES

Summary

Changes in lysosomes and Golgi complex are studied in the first hours and a day after affecting the cells of the rat testicle tissue cultures with small (stimulating) doses of antitesticular cytotoxic serum antibodies which are specific to the given cells. The electron-microscopic study of cells 1, 3, 6, 24, 48 and 72 h after the beginning of the antibody action was combined with a cytochemical study in the same periods of the enzymes, markers of lysosomes and Golgi complex, such as acid phosphatase, acid ribonuclease and thiamine pyrophosphatase. The experiments conducted showed that in the first hours and a day after the effect of the stimulating doses of the specific antibodies a considerable activation is observed of the lysosome apparatus of the cell and Golgi complex which may be associated at first with inactivation of the foreign material (antibody) penetrated into the cell and the levelling of the cell homeostasis, disturbed due to this effect, and further with activation of the cells vitality.

Department of Immunology and
Cytotoxic Sera, A. A. Bogomoletz Institute
of Physiology, Academy of Sciences,
Ukrainian SSR, Kiev

УДК 616—006—092.9:611.814.1

В. Б. Винницкий, И. Н. Шевченко, В. А. Хмара

**РАДИОАВТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СИНТЕЗА
ДНК В КЛЕТКАХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ ОРГАНОВ КРЫС
С ДМБА-ИНДУЦИРОВАННЫМ КАНЦЕРОГЕНЕЗОМ
ПРИ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ ЗАДНЕГО ГИПОТАЛАМУСА**

Развитие химически индуцированного канцерогенеза сопровождается фазовым изменением интенсивности синтеза ДНК в ядрах лимфоцитов — повышением этого показателя в период образования опухолевых зачатков и угнетением синтетических процессов в клетках лимфатических органов на этапе прогрессивного развития опухоли [5, 11].

Ранее нами было установлено, что электростимуляция области задних ядер гипоталамуса значительно тормозит развитие химического канцерогенеза у крыс [3, 4]. Можно предположить, что этот эффект в значительной мере обусловлен повышением иммунологической реактивности организма, так как известно, что задняя область гипоталамуса связана с регуляцией деятельности симпатно-адреналовой системы и коры надпочечников, нейромедиаторы и гормоны которых, оказывая влияние на пролиферацию и специфические функции иммунокомпетентных клеток, могут модулировать интенсивность иммунных реакций [8, 12]. В литературе нет данных о синтетических и пролиферативных процессах в лимфоидных органах при воздействии на гипоталамус.

Учитывая ведущую роль иммунокомпетентных клеток в формировании противоопухолевых реакций, мы поставили задачу изучить влияние электростимуляции области задних гипоталамических ядер на радиоавтографические показатели пролиферативной активности клеток селезенки и лимфатических узлов и развитие ДМБА-индуцированного канцерогенеза у крыс.

Методика исследований

Опыты проведены на 140 крысах-самцах породы Вистар весом 220—250 г в возрасте 2 мес по следующей схеме: 25 животным ввели внутримышечно 0,2 мл абрикосового масла (контроль); 115 крысам вводили 9,10-диаметил-1,2-бензотрацен (ДМБА) в мышцу бедра левой лапки в дозе 3 мг в 0,2 мл абрикосового масла; через 3 мес после введения канцерогена 48 крысам были вживлены электроды в область задних гипоталамических ядер. Первый электрод ориентировали в плоскости $AP-(+2)$, второй — в плоскости $AP-(+4)$. Электроды располагали на 0,3 мм латеральнее средней линии слева и погружали в мозг на 8 мм. Координаты электродов определяли по стереотаксическому атласу Фифковой и Маршалла. Электростимуляцию гипоталамуса проводили током пороговой силы (индивидуальную величину тока определяли по поведенческим реакциям животных) прямоугольными импульсами переменной полярности длительностью 1 мс, напряжением 1—2 В, частотой 80 имп/с ежедневно по 5 мин и начинали ее не ранее чем через 7 сут после операции. Всего проведено 25 сеансов электростимуляции. Методика вживления электродов и определения их локализации в мозге описана нами ранее [3].

После 10 сеансов электростимуляции группе животных (10 крыс) внутрибрюшинно вводили 3H -тимидин (11,8 мКи/мл, 1 мКи/г). Одновременно изотоп вводили шести

крысам с ДМБА-индуцированным канцерогенезом, которых не подвергали электростимуляции и шести контрольным животным. Через 1 ч после введения радиоактивной метки животных декапитировали и брали для исследования селезенку и регионарные (левые паховые) и отдаленные (правые паховые), по отношению к месту введения канцерогена, лимфоузлы.

Ткани фиксировали в жидкости Карнуа, часть препаратов — в 10% нейтральном формалине. Гистологическую обработку тканей проводили обычным способом: проводка по спиртам, заливка в парафин, приготовление срезов толщиной 4—5 мкм. Препараты депарафинировали, покрывали мелкозернистой эмульсией для ядерных исследований типа «М» и экспонировали две недели, затем проявляли в амидоловом проявителе, закрепляли, окрашивали гематоксилин-эозином или азур-эозином (по Романовскому), заключали в бальзам. Полученные таким образом радиоавтографы микроскопировали и определяли индекс метки: выраженное в процентах количество меченых клеток, входящих в число 1000 исследованных клеток. Как правило исследовали по 4—5 тыс клеток в каждом препарате. Помимо подсчета среднего значения индекса метки в препаратах особое внимание уделяли значительным скоплениям меченых клеток (реактивных центров) в лимфоузлах и селезенке [2, 6, 9].

Результаты исследований и их обсуждение

По данным радиоавтографии, индекс метки в лимфоидных органах животных, которым вводили ДМБА и подвергали электростимуляции гипоталамуса, был во всех случаях достоверно выше, чем у крыс, подвергавшихся воздействию ДМБА без электростимуляции, и у контрольных животных. При сравнении интенсивности синтеза ДНК в лимфатических узлах и селезенке крыс, получавших только канцероген, и животных контрольной группы достоверных различий не выявлено. Можно отметить тенденцию к уменьшению этого показателя в селезенке у нестимулированных крыс с ДМБА-индуцированным канцерогенезом (см. таблицу).

Исследование гистологических препаратов позволило установить, что лимфатические узлы контрольных животных имеют четко различимые структуры, свойственные этому органу: капсулу, краевую зону, синусы, располагающиеся в кортикальной и медуллярной зонах, фолликулы. Немногочисленные реактивные центры фолликулов рассеяны

Включение ^3H -тимидина в ДНК ядер лимфоцитов лимфатических органов крыс с ДМБА-индуцированным канцерогенезом при электростимуляции гипоталамуса

Группа животных (воздействие)	Индекс мечения (%) в лимфатических органах, $M \pm m$			Количество животных с опухолями в группах
	Регионарные лимфоузлы	Отдаленные лимфоузлы	Селезенка	
I ДМБА+электростимуляция гипоталамуса	$3,1 \pm 0,17$	$1,18 \pm 0,14$	$2,78 \pm 0,7$	Всего животных—38 Животных с опухолями—10 Выход опухолей в %— $26,4 \pm 7,1$ ($p < 0,001$)
II ДМБА	$0,8 \pm 0,11$	$0,5 \pm 0,11$	$0,6 \pm 0,1$	Всего животных—61 Животных с опухолями—38 Выход опухолей в %— $61,7 \pm 6,2$
III Контроль (абрикосовое масло)	$0,7 \pm 0,15$	$0,32 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,12$	—

*—достоверность различий между I и II, I и III группами;

**—достоверность различий между II и III группами.

в паракортикальной зоне. Отмечено небольшое количество лимфоидных и ретикулярных клеток, содержащих радиоактивную метку. Эти клетки располагаются, главным образом, в корковой зоне лимфоузлов. Как правило, в меченых клетках содержится не более 10—15 зерен ^3H -тимидина. В некоторых участках обнаруживаются скопления (20—30) меченых лимфоидных клеток.

Структура лимфатических узлов крыс, получавших ДМБА, в основном сохранена. Отмечается огрубление капсулы и трабекул. Выражена реакция со стороны корковых и медуллярных синусов — их расширение. Наблюдается разрастание волокнистой ткани, очаговый фиброз и гиалиноз. Под капсулой узла имеются участки некроза с замещением фиброзной тканью. Лимфоидная реакция не выражена, наблюдается уменьшение количества лимфоидной ткани. Лимфоциты и их ядра имеют нечеткие и неправильные контуры, выражены анизокариоз и фрагментация ядер, распад клеточных элементов. В участках, где лимфоидная ткань сохранена, имеются диффузно расположенные клетки, содержащие радиоактивную метку. Гораздо реже, чем в норме обнаруживаются скопления меченых лимфоцитов (до 10 клеток).

Лимфатические узлы животных, которым вводили ДМБА и подвергали электростимуляции гипоталамуса, характеризуются несколько сглаженным рисунком: нечетко контурируются фолликулы, капсула разрыхлена. Сохранен подкорковый синус, мозговые синусы не видны. Отмечается гомогенизация узла с выраженной лимфоидной пролиферативной реакцией. Привлекает внимание обилие меченых лимфоцитов, содержащих, как правило, более 20 зерен ^3H -тимидина и располагающихся как в кортикальной, так и в медуллярной зонах. Выражена сосудистая реакция — расширение кровеносных сосудов узла.

Аналогичные изменения структуры и пролиферативной активности клеток отмечены в селезенках животных подопытных групп. У крыс, которым вводили только ДМБА, отмечены дегенеративные изменения клеток, некоторое уменьшение количества меченых клеточных элементов по сравнению с интактными животными. В селезенке животных, которых после введения канцерогена стимулировали, наблюдалось достоверное увеличение количества реактивных центров и клеток, интенсивно включающих ^3H -тимидин.

Микрофотографии лимфатических узлов и селезенки представлены на рис. 1 и 2.

Проведенные радиоавтографические и морфологические исследования позволили установить, что электростимуляция области задних гипоталамических ядер, которую проводили в период, непосредственно предшествующий образованию опухолевых очагов, вызывала значительное повышение синтеза ДНК в ядрах лимфоцитов лимфатических узлов, особенно в регионарных к месту введения канцерогена, и в селезенке. Есть основания полагать, что это увеличение синтетической активности лимфоидных элементов сопровождалось повышением их специфических защитных функций, так как количество крыс с развившейся опухолью в группе стимулированных животных было значительно меньше, чем в группе нестимулированных крыс. Учет количества животных с опухолями был проведен через 5 мес после введения канцерогена.

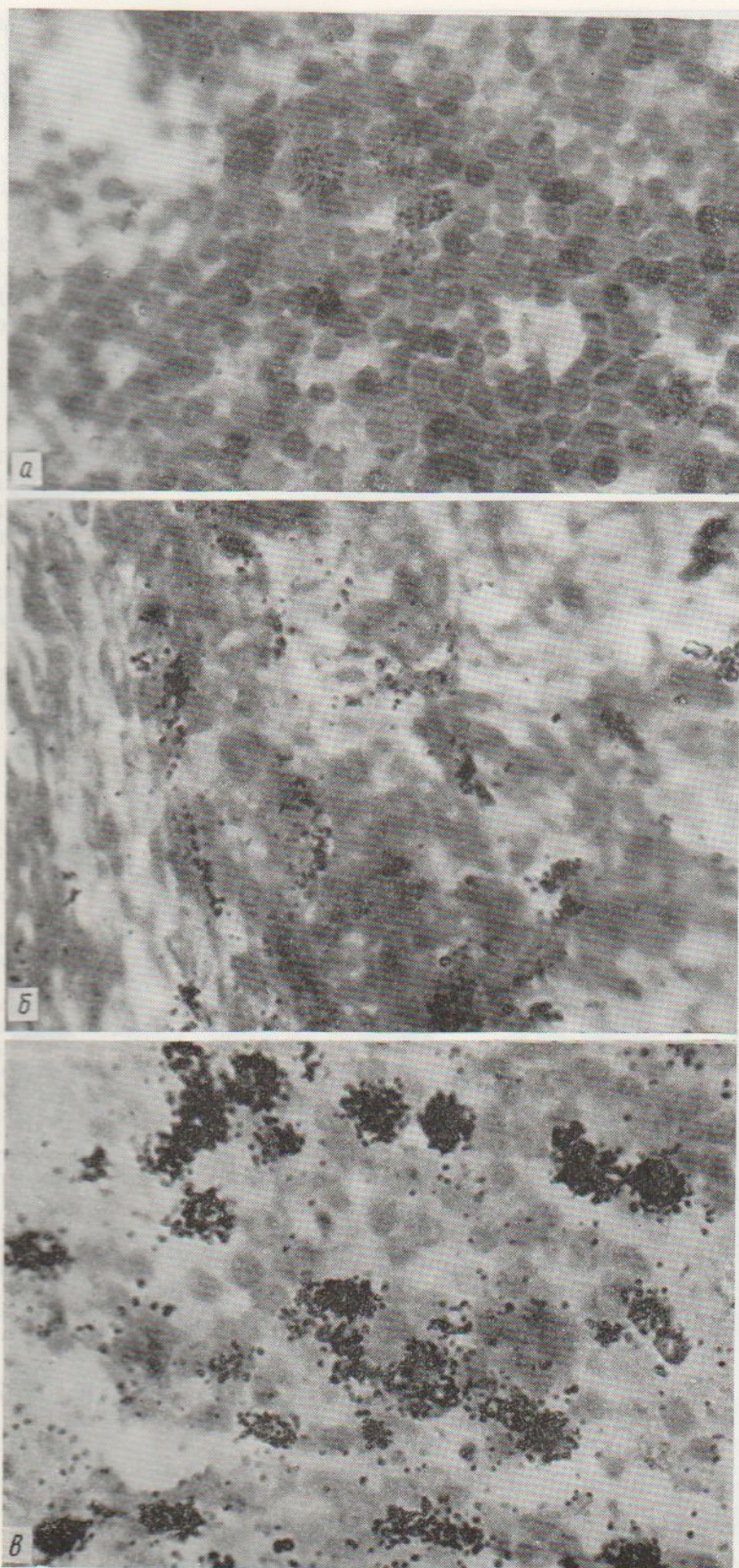
Ранее нами было показано, что электростимуляция заднего отдела гипоталамуса сопровождается активацией тонуса симпатно-адреналовой системы и повышением концентрации свободного кортикостерона в плазме крови [1, 4]. По-видимому, такие нейро-гуморальные сдвиги являются оптимальными для формирования иммунного ответа. Пока-

зано, напри-
малую ак-
предель у-
реакций (10
Можно
электростим-
чески повы-
лужеродные
ках под воз-
чительно бо-
тивных про-
ми реагирова-

1. Зас-
вызывает и-
ДМБА между
попытки
ски уа-
2. По-
возможности
личены пр-
состояние и
хлудирова-

1. Влияние
Механизм
2. Анализ
1960-65
2. Влияние
гипоталамуса
гипоталамуса
гипоталамуса
1960-65
1. Влияние
гипоталамуса
гипоталамуса
1960-65

Рис. 1. Радиоавтограмма регионарных паховых лимфатических узлов крыс через 3,5 мес после введения а — абрикосового масла (контроль), б — ДМБА, в — ДМБА и электростимуляции гипоталамуса. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10×90 .



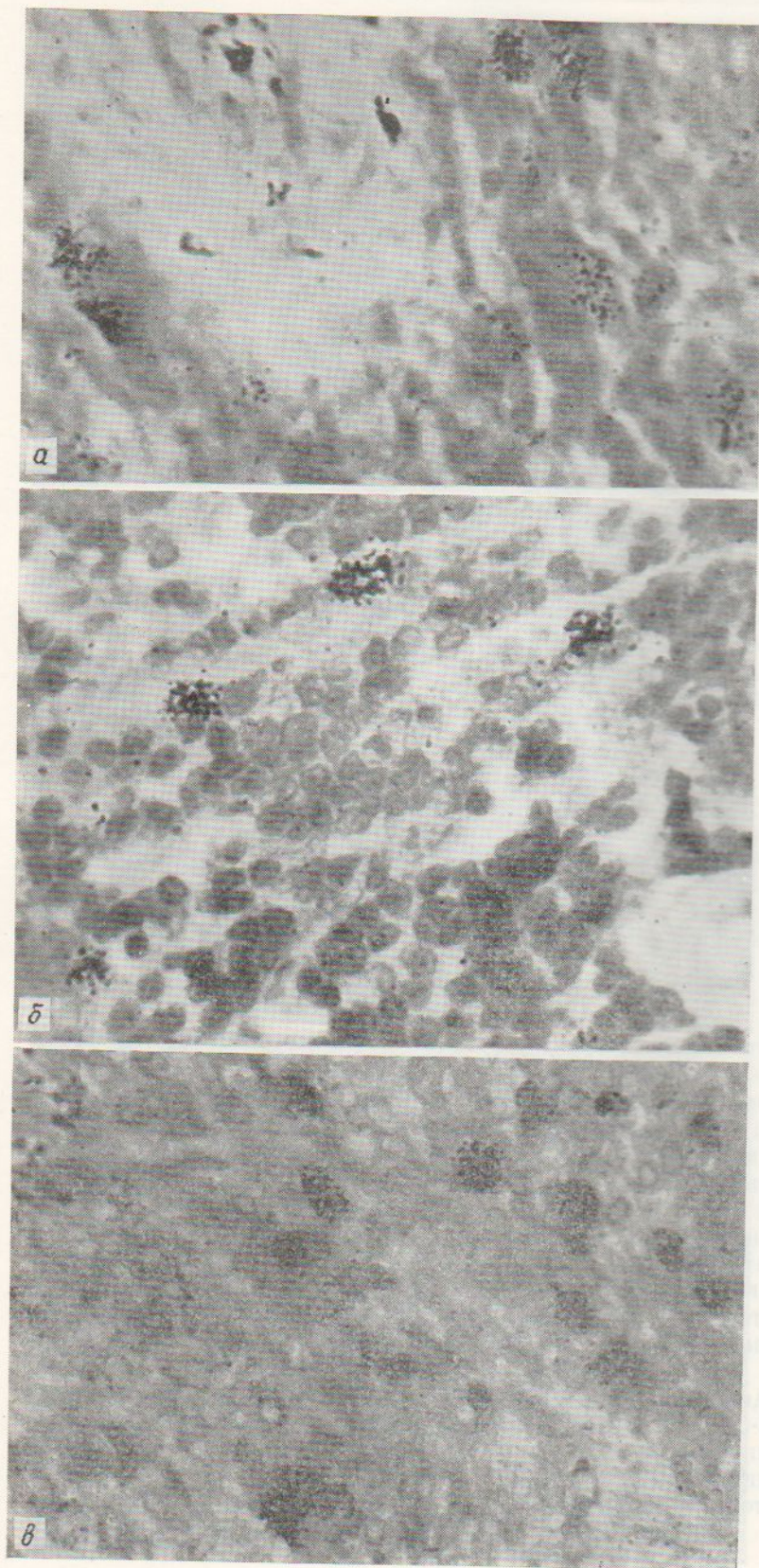


Рис. 2. Радиоавтограмма селезенки крыс через 3,5 мес после введения а — абрикосового масла (контроль), б — ДМБА, в — ДМБА и электростимуляции гипоталамуса. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10×90 .

зано, например, что некоторые нейромедиаторы повышают функциональную активность лимфоцитов [7], а повышение в физиологических пределах уровня кортикостерона способствует развитию иммунных реакций [10].

Можно полагать, что нейро-гуморальные перестройки, вызванные электростимуляцией области задних ядер гипоталамуса, неспецифически повышают готовность иммунокомпетентных клеток к реакции на чужеродные антигены, в частности на антигены, появляющиеся в клетках под воздействием химических канцерогенов. Этим объясняется значительно более выраженная активация синтетических и пролиферативных процессов в регионарных лимфоузлах, клетки которых первыми реагируют на опухолевый антиген.

Выводы

1. Электростимуляция области задних гипоталамических ядер повышает индекс метки в лимфатических узлах и селезенке крыс с ДМБА-индуцированным канцерогенезом. Наиболее существенно это повышение в регионарных к месту введения канцерогена лимфатических узлах.
2. Повышение синтеза ДНК в клетках лимфоидных органов под воздействием электростимуляции гипоталамуса свидетельствует об увеличении пролиферативной активности лимфоцитов. Функциональное состояние их в значительной мере обуславливает торможение ДМБА-индуцированного канцерогенеза.

Литература

1. Балицкий К. П., Винницкий В. Б., Воронцова А. Л., Сопочинская Е. Б., Шуба Е. П. Механизмы противоопухолевой резистентности.— К.: Наукова думка, 1978.—208 с.
2. Вельш У., Шторх Ф. Введение в цитологию и гистологию животных.— М.: Мир, 1976.—248 с.
3. Винницкий В. Б., Шмалько Ю. П. Влияние электростимуляции области задних гипоталамических ядер на экскрецию катехоламинов с мочой и развитие ДМБА-индуцированных опухолей у крыс.— Физиол. журнал, 1978, 24, № 3, с. 401—406.
4. Винницкий В. Б., Придатко О. Е., Шмалько Ю. П., Балицкий К. П. Роль нейро-гуморальных факторов в формировании противоопухолевой резистентности.— В кн.: Теоретическая иммунология — практическому здравоохранению. Таллин, 1978, с. 177—178.
5. Гудим-Левкович К. А. Некоторые стороны обмена ДНК в иммунокомпетентных органах мышей в процессе канцерогенеза.— В кн.: Иммунология химического канцерогенеза. К.: Наукова думка, 1975, с. 104—123.
6. Епифанова О. И., Терских В. В., Захаров А. Ф. Радиоавтография.— М.: Высшая школа, 1977.—252 с.
7. Козлов В. К. Проблема регуляции функции специфического иммунитета.— В кн.: Проблемы современной иммунологии. М.: Медицина, 1972, с. 255—258.
8. Корнева Е. А., Клименко В. М., Шхинек Э. К. Нейро-гуморальное обеспечение иммунного гомеостаза.— Л.: Наука, 1978.—176 с.
9. Меркулов Г. А. Курс гистологической техники.— Л.: Медицина, 1969.—423 с.
10. Соркин Э., Пьерпаоли В. Гормоны и способность к иммунологическому ответу.— В кн.: Современные проблемы иммунологии и иммунопатологии. Л., 1970, с. 51—59.
11. Уманский Ю. А. Иммунологическая реактивность при раке.— К.: Здоров'я, 1974.—240 с.
12. Фролов Е. П. Нейро-гуморальные механизмы регуляции иммунологических процессов.— М. Медицина, 1974.—264 с.

Институт проблем онкологии им. Р. Е. Кавецкого
АН УССР

Поступила в редакцию
12.VII 1978 г.

зано, например, что некоторые нейромедиаторы повышают функциональную активность лимфоцитов [7], а повышение в физиологических пределах уровня кортикостерона способствует развитию иммунных реакций [10].

Можно полагать, что нейро-гуморальные перестройки, вызванные электростимуляцией области задних ядер гипоталамуса, неспецифически повышают готовность иммунокомпетентных клеток к реакции на чужеродные антигены, в частности на антигены, появляющиеся в клетках под воздействием химических канцерогенов. Этим объясняется значительно более выраженная активация синтетических и пролиферативных процессов в регионарных лимфоузлах, клетки которых первыми реагируют на опухолевый антиген.

Выводы

1. Электростимуляция области задних гипоталамических ядер повышает индекс метки в лимфатических узлах и селезенке крыс с ДМБА-индуцированным канцерогенезом. Наиболее существенно это повышение в регионарных к месту введения канцерогена лимфатических узлах.
2. Повышение синтеза ДНК в клетках лимфоидных органов под воздействием электростимуляции гипоталамуса свидетельствует об увеличении пролиферативной активности лимфоцитов. Функциональное состояние их в значительной мере обуславливает торможение ДМБА-индуцированного канцерогенеза.

Литература

1. Балицкий К. П., Винницкий В. Б., Воронцова А. Л., Сопочинская Е. Б., Шуба Е. П. Механизмы противоопухолевой резистентности.— К.: Наукова думка, 1978.—208 с.
2. Вельш У., Шторх Ф. Введение в цитологию и гистологию животных.— М.: Мир, 1976.—248 с.
3. Винницкий В. Б., Шмалько Ю. П. Влияние электростимуляции области задних гипоталамических ядер на экскрецию катехоламинов с мочой и развитие ДМБА-индуцированных опухолей у крыс.— Физиол. журнал, 1978, 24, № 3, с. 401—406.
4. Винницкий В. Б., Придатко О. Е., Шмалько Ю. П., Балицкий К. П. Роль нейро-гуморальных факторов в формировании противоопухолевой резистентности.— В кн.: Теоретическая иммунология — практическому здравоохранению. Таллин, 1978, с. 177—178.
5. Гудим-Левкович К. А. Некоторые стороны обмена ДНК в иммунокомпетентных органах мышей в процессе канцерогенеза.— В кн.: Иммунология химического канцерогенеза. К.: Наукова думка, 1975, с. 104—123.
6. Епифанова О. И., Терских В. В., Захаров А. Ф. Радиоавтография.— М.: Высшая школа, 1977.—252 с.
7. Козлов В. К. Проблема регуляции функции специфического иммунитета.— В кн.: Проблемы современной иммунологии. М.: Медицина, 1972, с. 255—258.
8. Корнева Е. А., Клименко В. М., Шхинек Э. К. Нейро-гуморальное обеспечение иммунного гомеостаза.— Л.: Наука, 1978.—176 с.
9. Меркулов Г. А. Курс гистологической техники.— Л.: Медицина, 1969.—423 с.
10. Соркин Э., Пьерпаоли В. Гормоны и способность к иммунологическому ответу.— В кн.: Современные проблемы иммунологии и иммунопатологии. Л., 1970, с. 51—59.
11. Уманский Ю. А. Иммунологическая реактивность при раке.— К.: Здоров'я, 1974.—240 с.
12. Фролов Е. П. Нейро-гуморальные механизмы регуляции иммунологических процессов.— М. Медицина, 1974.—264 с.

Институт проблем онкологии им. Р. Е. Кавецкого
АН УССР

Поступила в редакцию
12.VII 1978 г.

УДК 612-017.1-06:618.19-006-02-092.9

Т. Н. Селезнева, Л. Я. Каменец, Ю. А. Гриневич

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ИММУННЫХ РОЗЕТОК КЛЕТКАМИ НЕКОТОРЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ЛИМФОИДНОЙ СИСТЕМЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ТИМОЗИНА

При развитии злокачественных новообразований у животных и человека наблюдается уменьшение количества и снижение функциональной активности *T*-лимфоцитов [9, 11]. Введение экстракта тимуса тимозина восстанавливает количество этих клеток до нормальных величин и усиливает их активность в ряде клеточно опосредованных иммунологических реакций [6, 7, 8]. Действие тимозина на лимфоидную систему усиливается и продлевается в условиях гипокортицизма [3].

Иммунизация животных гетерологичными эритроцитами приводит к накоплению в лимфоидных органах клеток, образующих розетки с этими эритроцитами. Таким свойством обладают *T*- и *B*-лимфоциты [1, 5, 13].

Мы исследовали действие тимозина на способность клеток тимуса, селезенки и лимфатических узлов крыс формировать иммунные розетки с эритроцитами барана в условиях адреналэктомии в процессе развития химически индуцированного канцерогенеза молочных желез.

Методика исследований

Исследования проведены на 139 крысах-самках стадной разведения. Опухоли молочных желез индуцировали внутривенным введением 7,12-диметилбензантрацена (ДМБА). Введение канцерогена повторяли трижды с семидневным интервалом. Суммарная доза ДМБА на крысу составляла 6 мг. Тимозин (3 фракция), выделенный из тимуса телят [7], вводили внутримышечно по 10 мг каждые 10 дней девятикратно. У части животных через 14 дней после окончания введения ДМБА удаляли надпочечники, а спустя 10 дней начинали курс инъекций тимозина. По характеру применявшихся воздействий животные были распределены на пять групп: I (контрольная) — введение ДМБА; II — введение ДМБА+адреналэктомия; III — введение ДМБА+тимозин; IV — введение ДМБА+адреналэктомия+тимозин; V — нормальные животные.

Для тестирования розеткообразования, всем животным за 4 сут до взятия органов на исследование внутривенно вводили по $5 \cdot 10^8$ эритроцитов барана. Крыс иммунизировали на второй день после последнего введения ДМБА, через 10 сут после адреналэктомии, после трех, шести и девяти инъекций тимозина. Количество розеткообразующих клеток (РОК) в тимусе, селезенке и лимфатических узлах определяли в мазках [10]. РОК дифференцировали в зависимости от их функциональной активности, оцениваемой по способности присоединять к своей поверхности эритроциты: сформированные 4—6 эритроцитами барана относили к T_1 , 7—10 — к T_2 , более чем 10 — к *B*-лимфоцитам [1, 5, 10] (в наших исследованиях *B*-лимфоциты встречались крайне редко, поэтому в работе эти данные не представлены).

Результаты исследований и их обсуждение

В тимусе нормальных крыс (V группа) обнаруживали РОК только с минимальной активностью (T_1 -РОК) — в среднем их количество составляло $6,68 \pm 1,18\%$.

В первый месяц после введения ДМБА в тимусе животных I группы количество T_1 -лимфоцитов существенно снижалось (см. таблицу).

Влияние тимозина на содержание РОК в тимусе, селезенке и лимфатических узлах адреналэктомированных крыс в процессе индуцированного ДМБА рака молочной железы

группы живот- ных	Клетки	Количество РОК в % ($M \pm m$) в различные сроки после окончания введения ДМБА					
		Через 5 дней	Через 1 мес	Через 2 мес	Через 3 мес	Через 4 месяца	
						без опухолей	с опухолями
				Тимус			
I	T ₁ T ₂	3,86±1,77(9) 0	3,43±1,21 ^x (8) 0	7,94±1,40(8) 0	4,50±1,47(9) 0	15,31±5,02 ^x (8) 0	13,50±4,20(5) 0
II	T ₁ T ₂	—	1,16±0,40 ^{xk} (6) 0	7,44±2,00(8) 0	14,64±2,83 ^{xk} (7) единичные (7)	10,00±2,47(8) единичные (8)	11,92±2,31(7) 0
III	T ₁ T ₂	—	—	11,44±2,12 ^x (8) единичные (8)	8,56±1,62 ^k (8) единичные (8)	15,70±4,77 ^x (10) единичные (10)	—
IV	T ₁ T ₂	—	—	13,00±2,13 ^{xk} (8) единичные (8)	6,75±2,68(6) единичные (6)	27,20±5,28 ^{xk} (5) единичные (5)	—
				Селезенка			
I	T ₁ T ₂	9,94±2,62(9) 0	9,69±3,04(8) 0	9,62±1,34(8) 0	4,50±1,62 ^x (9) 0	15,56±3,56(8) 0	13,30±3,70(5) 0
II	T ₁ T ₂	—	6,74±3,38(7) 0	17,13±3,36 ^k (8) 0,63±0,38(8)	16,36±6,21 ^k (7) 0,64±0,33(7)	15,37±3,89(8) единичные (8)	15,42±4,13(7) 0
III	T ₁ T ₂	—	—	26,12±4,35 ^{xk} (8) 1,69±0,69 ^{xk} (8)	15,75±3,12 ^k (8) 0,31±0,14 ^k (8)	26,55±5,68 ^x (10) 0,55±0,23 ^k (10)	—
IV	T ₁ T ₂	—	—	21,07±2,50 ^{xk} (7) 0,87±0,34 ^{xk} (7)	18,16±7,51 ^k (6) 0,75±0,32 ^{xk} (6)	25,32±4,03 ^x (6) 1,34±0,58 ^{xk} (6)	—
				Лимфатические узлы			
I	T ₁ T ₂	8,22±2,76(9) 0	8,12±2,37(8) 0	3,62±1,55 ^x (8) 0	3,83±1,46 ^x (9) 0	13,12±2,72(8) 0	10,70±3,03(5) 0
II	T ₁ T ₂	—	4,20±2,21 ^x (7) 0	10,75±2,07 ^k (8) 0	17,86±3,20 ^k (7) 0,29±0,17(7)	15,12±3,97(8) 0,31±0,18(8)	19,20±3,90(7) 0
III	T ₁ T ₂	—	—	23,28±4,43 ^{xk} (7) 0,79±0,16 ^k (7)	10,13±2,59 ^k (8) единичные (8)	22,65±4,60 ^x (10) 0,45±0,26(10)	—
IV	T ₁ T ₂	—	—	14,63±2,23 ^k (8) 0,13±0,08(8)	12,50±4,01 ^k (6) 0,33±0,19(6)	18,62±5,56(6) 0,25±0,18(6)	—

^x — $p < 0,05$ по сравнению с показателями в норме, ^k — $p < 0,05$ по сравнению с показателями в контроле (I группа). В скобках указано количество наблюдений.

В более поздние сроки канцерогенеза (через 4 мес после окончания введения ДМБА) у животных этой группы наблюдалось увеличение количества T_1 -РОК в тимусе, выраженное в большей степени у крыс, у которых к данному сроку опухоли еще не возникли.

У животных с удаленными надпочечниками (II группа) содержание T_1 -РОК в тимусе повышалось на месяц раньше, чем у животных I группы (достоверно не только по сравнению с их уровнем у животных контрольной группы, но и у нормальных крыс). В тимусе животных этой группы параллельно с увеличением числа T_1 -РОК регистрировалось наличие единичных T_2 -РОК.

Введение животным тимозина (III группа) сопровождалось увеличением по сравнению с нормой количества T_1 - и появлением T_2 -РОК в тимусе во все сроки наблюдения. Увеличение количества T_1 -лимфоцитов в тимусе животных этой группы по сравнению с контролем (I группа) наблюдали только через 3 мес после окончания введения ДМБА. В тимусе крыс этой группы регистрировали появление единичных T_2 -РОК.

Применение тимозина на фоне адреналэктомии (IV группа) увеличивало через 2 и 4 мес после окончания введения ДМБА количество T_1 -РОК в тимусе по сравнению с соответствующими показателями в группе контрольных животных. Через 3 мес после окончания введения канцерогена количество T_1 -РОК в тимусе крыс IV группы соответствовало нормальным величинам. У животных этой группы мы также регистрировали в тимусе единичные T_2 -РОК.

В селезенке нормальных крыс (V группа) количество T_1 -РОК составляло $10,02 \pm 1,36\%$, а T_2 -РОК — $0,15 \pm 0,06\%$.

Введение канцерогена вызвало снижение количества T_1 -РОК в селезенке по сравнению с нормой только спустя 3 мес. T_2 -РОК в селезенке животных этой группы не были обнаружены.

У крыс с удаленными надпочечниками (II группа), начиная с двух месяцев после окончания введения ДМБА, наблюдали повышение содержания T_1 -РОК в селезенке по сравнению с контролем. В эти же сроки в селезенке появились T_2 -РОК.

Введение тимозина крысам с неудаленными надпочечниками (III группа) и на фоне адреналэктомии (IV группа) увеличивало накопление T_1 - и T_2 -РОК в селезенке во все сроки обследования.

В лимфатических узлах нормальных крыс (V группа) регистрировали $11,14 \pm 2,20\%$ T_1 -РОК и $0,31 \pm 0,12\%$ T_2 -РОК.

Количество T_1 -РОК в лимфатических узлах животных I группы достоверно снижалось по сравнению с нормальными через 2 и 3 мес после окончания введения канцерогена. В лимфатических узлах крыс этой группы T_2 -РОК обнаруживались редко.

Адреналэктомия (II группа), инъекции тимозина животным с неудаленными надпочечниками и адреналэктомизированным крысам (III и IV группы) предотвращали уменьшение T_1 -РОК в лимфатических узлах через 2 и 3 мес после введения ДМБА, как это наблюдалось у контрольных животных.

Появление T_2 -РОК в популяции лимфоцитов, выделенных из лимфатических узлов адреналэктомизированных крыс, отмечено через 3 и 4 мес после окончания введения ДМБА, у животных III и IV групп, леченных тимозином — во все сроки обследования.

Таким образом, в динамике индуцированного ДМБА канцерогенеза молочных желез у крыс снижается содержание реактивных по отношению к эритроцитам барана лимфоцитов в селезенке и, особенно, в тимусе и лимфатических узлах. Причем, депрессивное влияние кан-

церогена на уровень T_1 -лимфоцитов в тимусе регистрируется раньше, чем в лимфатических узлах.

Введение тимозина значительно увеличивает содержание T_1 -РОК в исследуемых лимфоидных органах и способствует появлению T_2 -лимфоцитов в селезенке и лимфатических узлах крыс в динамике канцерогенеза. Это, вероятно, обусловлено влиянием тимозина, стимулирующим созревание и функциональную активность T -клеток [4, 7, 8].

Двусторонняя адреналэктомия усиливает и, в определенной степени, продлевает регулирующее действие тимозина на пролиферацию популяции T -клеток, способствуя накопления T_1 -и T_2 -лимфоцитов в лимфоидных органах крыс, что можно объяснить устранением лимитирующего действия глюкокортикоидов на кортизончувствительные лимфоциты [3, 12].

Параллельно проведенное исследование влияния тимозина на развитие индуцированных ДМБА опухолей молочных желез у крыс показало, что стимулирующее действие препарата на уровень иммунных РОК в лимфоидных органах сопровождалось снижением частоты возникновения новообразований, максимально выраженным при использовании тимозина на фоне адреналэктомии [2].

Кроме того, следует отметить, что для крыс, у которых пальпируемые опухоли не возникли к 4 мес после окончания введения ДМБА, характерно, наряду с нарастанием в лимфоидных органах количества T_1 -, накопление T_2 -лимфоцитов по сравнению с соответствующими показателями в группе животных-опухоленосителей (см. таблицу).

Таким образом, поддержание высокого уровня T -клеток в лимфоидных органах крыс имеет важное значение для формирования противоопухолевой резистентности организма. Можно предположить, что противоопухолевое действие тимозина обусловлено восстановлением соотношения отдельных субпопуляций T -лимфоцитов с последующим положительным влиянием на их кооперацию и развитие полноценных противоопухолевых иммунологических реакций. Усиление влияния тимозина на противоопухолевую резистентность организма в условиях гипокортицизма, по-видимому, связано с повышением содержания в лимфоидных органах крыс кортизончувствительных лимфоцитов. Выполняя функцию клеток-хелперов, они могут дополнять действие кортизонрезистентных лимфоцитов, играющих роль как хелперов, так и киллеров [3, 12].

Выводы

1. В ранние сроки индуцированного ДМБА канцерогенеза молочных желез у крыс наблюдается снижение содержания иммунных РОК в тимусе, селезенке и лимфатических узлах.
2. Двусторонняя адреналэктомия после окончания введения ДМБА приводит к увеличению количества иммунных РОК в селезенке, лимфатических узлах и, в меньшей степени, в тимусе.
3. Тимозин оказывает стимулирующее влияние на накопление иммунных РОК в селезенке, лимфатических узлах крыс в процессе канцерогенеза молочных желез. Действие препарата усиливается и продлевается на фоне адреналэктомии.

Литература

1. Гриневиц Ю. А. Особенности формирования спонтанных и иммунных розеток клетками тимуса и других образований лимфоидной системы кроликов. — Ж. микробиол. эпидем. и иммунобиол., 1975, № 11, с. 68—73.

2. Гриневиц Ю. А., Чеботарев В. Ф., Каменец Л. Я., Селезнева Т. Н. К вопросу о гормональной регуляции противоопухолевого иммунитета.— Физиология иммун. гомеостаза. Тезисы II Всесоюз. симпоз. Ростов-на-Дону, 1977, с. 97—98.
3. Чеботарев В. Ф. Особенности влияния тимозина на иммунологические реакции у адреналэктомированных животных.— Физиол. журн., 1978, 24, № 1, с. 34—39.
4. Cohen C. H., Hooper J. A., Goldstein A. L. Thymosin-induced differentiation of murine thymocyte in allogenic mixed lymphocyte cultures.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975, 249, p. 145—153.
5. Elliott B. E., Haskill J. S. Characterization of thymus-derived and bone marrow derived rosette-forming lymphocytes.— Europ. J. Immunol., 1973, 3, p. 68—74.
6. Goldstein A. L., White A. Role of thymosin and other thymic factor in the development maturation and function of lymphoid tissue.— Current Topics Exptl. Endocrinol., 1971, N 1, p. 121—149.
7. Goldstein A. L., Guha A., Latz M. M., Harby H. A., White A. Purification and biological activity of thymosin, a hormone of the thymus gland.— Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1972, 69, N 7, p. 1800—1803.
8. Goldstein A. L., White A. Thymosin and other thymus hormones, their nature and roles in the thymic dependency of immunological phenomena.— Contemp. Topics Immunobiol. New York—London, 1973, 2, p. 299—350.
9. Harris G., Copelan D. Impaired immunoresponsiveness in tumor patients.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1974, 230, p. 56—85.
10. Haskill J. S., Elliott B. E., Kerbel R., Axelder M., Eidenger D. Classification of thymus-derived and marrow derived lymphocytes by demonstration of their antigen-binding characteristics.— J. exp. Med., 1972, 135, p. 1410—1415.
11. Smith B. T. Possibilities and problems of immunologic intervention in cancer.— New. Engl. J. Med., 1972, 287, p. 439—450.
12. Thurman G. B., Rossio J. L., Goldstein A. L. Thymosin-induced recovery of murine T-cell function following treatment with hydrocortisone acetate.— Transp. Proc., 1977, 9, N 1, p. 1201—1203.
13. Wilson J. D., The function of immune T-and B-rosette-forming cells.— Immunology, 1973, 25, p. 185—196.

Киевский рентгено-радиологический
и онкологических институт

Поступила в редакцию
14. VIII 1978 г.

T. N. Selezneva, L. Ya. Kamenets, Yu. A. Grinevich

THE PECULIARITIES IN THE IMMUNE ROSETTES FORMATION BY THE LYMPHOID SYSTEM CELLS UNDER THE THYMOSIN EFFECT

Summary

The data are presented on the research of the effect of thymosin (fraction 3) and adrenalectomy on the number of the immune rosette forming cells (RFC) to the sheep red blood cells in the thymus, spleen and lymphatic nodes of the rats in the process of the development of the DMBA-induced mammary cancer.

The quantity of the immune RFC in the thymus, spleen and lymphatic nodes is shown to decrease at the initial stages of cancer.

The adrenalectomy preceded by the DMBA injection promotes the increase in the immune RFC content in the lymphoid organs of the rats.

Thymosin injection stimulates the accumulation of the immune RFC in the lymphoid organs of the rats in the course of chemically induced cancer. The effect of thymosin is intensified by the adrenalectomy.

Rentgenological-Radiological and
Oncological Institute, Kiev

ФОРМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛИМФОИДНЫХ
И ТУЧНЫХ КЛЕТОК

Первые гипотезы о формах взаимодействия мастоцитов с клетками иммунокомпетентной системы высказаны совсем недавно [1, 6, 8, 22], и это не удивительно, так как и сама постановка вопроса, и способы его решения непосредственно вытекают из новейших достижений теоретической и экспериментальной иммунологии.

Анализ данных литературы показывает, что взаимодействие лимфоидных и тучных клеток может осуществляться как минимум в следующих двух формах: дистантно и при непосредственном контакте. Сведения о дистантном влиянии лимфоидных клеток на мастоциты представлены в основном данными об эффекте опосредуемом *Ig E*-анти-телами. На тучных клетках выявлены рецепторные образования [11, 12], специфически связывающие реагены в результате чего мастоциты приобретают возможность отвечать на соответствующие антигенные раздражения. Предполагается также, что активированные антигеном лимфоциты при определенных условиях могут выделять фактор, стимулирующий образование тучных клеток [4]. Значительно лучше изучены механизмы дистантного влияния, оказываемого мастоцитами на клетки лимфоидного ряда, которое осуществляется как по принципу обратной связи через изменение уровня циркулирующих реагинов, так и посредством биологически активных продуктов дегрануляции тучных клеток.

Синтез *IgE*-антител плазматическими клетками, так же как и образование антител различных классов, в значительной мере зависит от уровня циркулирующих реагинов, изменение которого во многом определяется количеством тучных клеток, числом локализованных на них рецепторов для *IgE*-антител и активностью деградации этих иммуноглобулинов протеазами мастоцитов. Бах и соавт. [3] особенно подчеркивают эффективность последнего механизма. В условиях проведенных ими экспериментов тучные клетки за 1 ч связывали 75% вводимого в среду иммуноглобулина *E*, 21—77% которого в результате инкубации с мастоцитами подвергалось разрушению протеазами, избирательно расщепляющими *IgE*.

Однако наиболее широко возможности активного влияния мастоцитов на различные иммунокомпетентные клетки, по-видимому, реализуются через биологически активные продукты их дегрануляции — прежде всего гистамин. Долгое время считалось, что значение этого медиатора в развитии воспаления, анафилаксии и иммунологических реакций ограничивается влиянием на сосудистую проницаемость, сократимость мускулатуры, секрецию желез. Однако, как показали результаты работ последних лет, гистамин может модулировать функции лейкоцитов, оказывая прямое влияние на клетки, участвующие в иммунном ответе. Установлено, что биологическое действие гистамина осуществляется через специфические рецепторы, локализующиеся на плазматической мембране клеток. Результаты определения лимфоцитов, несущих рецепторы к гистамину, показали, что они встречаются среди различных субпопуляций *T* и *B* клеток, включая клетки регуляторы и эффекторы иммунного ответа [13, 15, 16, 17, 19, 23].

Взаимодействие гистамина с соответствующими рецепторами приводит к увеличению в лимфоцитах концентрации внутриклеточного цАМФ за счет активации связанной с мембраной аденилциклазы [2]. Известно, что изменения концентрации внутриклеточного цАМФ в зависимости от их выраженности и исходного уровня, а также от функционального состояния клетки, могут сопровождаться разнообразными изменениями лимфоцитов, включая их стимуляцию или ингибицию. Указанные обстоятельства объясняют многообразие проявлений влияния гистамина на иммунную систему и зави-

симось его результатов от особенностей тест-системы. Данные литературы о влиянии гистамина на иммунокомпетентные клетки приведены в таблице.

Влияние гистамина на различные функции лейкоцитов

Доза гистамина	Функция лейкоцитов	Тип лейкоцитов	Авторы
$2 \cdot 10^{-5} M$	Увеличение числа <i>Thy-1</i> , <i>TL</i> -антигенов	Тимоциты 14-дневных эмбрионов мыши	Singh, Owen, 1976 [20]
$3 \cdot 10^{-4} M$ — $3 \cdot 10^{-7} M$	Торможение образования <i>E</i> -розеток	Лейкоциты больных аллергией	De Cock W., De Creé J., Verhaegen H., 1977 [7]
$10^{-4} M$	Отмена индуцированной антигеном иммунной супрессии	Клетки селезенки, инкубированные <i>in vitro</i> с антигеном (<i>TG</i>)- <i>Pro-L</i>	Weinstein, Melmon, 1976 [24]
$10^{-4} M$	Ослабление супрессивного действия клеток-супрессоров на <i>Ig M</i> , <i>Ig G</i> -антителообразование	Клетки селезенки intact-ных мышей или мышей, иммунизированных эритроцитами барана	Weinstein, Melmon, 1976 [24]
1 мкг (10^{-4} — $9 \cdot 10^{-5} M$)	Подавление <i>Ig M</i> -бляшкообразования	Клетки селезенки, стимулированные <i>in vitro</i> эритроцитами лошади	Fallan et al., 1975 [8]
$10^{-5} M$	Подавление бляшкообразования (<i>Ig M</i> , <i>Ig G</i>)	Клетки селезенки мышей, иммунизированных эритроцитами барана	Melmon et al., 1974 [16]
$10^{-5} M$	Угнетение цитолитической активности	Спленоциты мышей, иммунизированных клетками мышинной мастоцитомы	Plaut et al., 1975 [17]
10^{-3} — $10^{-4} M$	Подавление продукции ФУМ и пролиферации лимфоцитов	Клетки лимфоузлов intact-ных и иммунизированных морских свинок	Rochlin et al., 1978 [18]
10^{-5} — $10^{-7} M$	Торможение выделения гистамина	Базофилы человека	Lichtenstein, 1975 [14]

Значительный интерес, особенно для медицинской практики, представляют данные литературы, свидетельствующие о возможности существенных изменений чувствительности лимфоцитов человека к гистамину в условиях патологии. Так, в опытах *in vitro* показано, что у больных аллергическими заболеваниями, в отличие от здоровых людей, гистамин тормозит образование *T*-лимфоцитами розеток с эритроцитами барана (*E* РОК) [7]. Повышение чувствительности лимфоцитов к ингибирующему действию гистамина у больных атопией детей выявлено также при изучении уровня синтеза ДНК, который оценивали по включению 3H -тимидина в ответ на ФГА и Кон А [21]. Авторы предполагают, что гистамин ингибирует, в основном, *T*-супрессоры, в результате чего повышается продукция *Ig E*-антител.

Из представленных данных следует, что гистамин, подобно дифференцировочным факторам тимуса, может ускорять созревание незрелых лимфоидных клеток, но, в отличие от тимозина, может также угнетать эффекторные функции лимфоцитов.

Указанная особенность влияния гистамина на иммунокомпетентные клетки весьма целесообразна, поскольку позволяет организму ограничивать развитие иммунопатологии. Таким образом, через гистамин и, возможно, другие продукты дегрануляции тучных клеток замыкается обратная связь, существующая между специализированной системой специфического иммунитета и клетками мастоцитарной системы, дополняющей реакции специфического иммунитета защитными факторами неспецифического воспаления.

Контактные взаимодействия мастоцитов с иммунокомпетентными клетками могут осуществляться в виде периполеза, что было показано с помощью метода микрокино-

съемки перитонеальных тучных клеток и аутолимфоцитов [6]. Установлено, что одиночные или объединенные в группы лимфоидные клетки способны временно или постоянно контактировать с мастоцитами, что проявляется в миграции лимфоцитов по поверхности тучных клеток. Обнаруженное явление связывают с реакциями иммунитета.

Другой формой непосредственного взаимодействия мастоцитов с лимфоцитами является образование масто-лимфоцитарных розеток (МЛР) [1]. В опытах *in vitro* нами показано, что при инкубации тучных клеток с лимфоцитами последние прочно присоединяются к части мастоцитов, в результате чего образуются характерные фигуры розеток (1 тучная клетка и 3 и более лимфоцитов). МЛР образуются в сингенной и, в меньшем количестве, в аллогенной и ксеногенной системах лимфоидными клетками тимуса, селезенки, лимфоузлов, перитонеального экссудата и костного мозга. Реакция розеткообразования идет только в присутствии солей Ca^{2+} . В образовании МЛР активно участвуют как тучные клетки, так и лимфоциты. При этом мастоциты новорожденных способны присоединять лимфоциты так же эффективно, как и тучные клетки взрослых, тогда как способность лимфоцитов к розеткообразованию увеличивается с возрастом.

Обработка лимфоцитов гистамином (10^{-4} — 10^{-6} М) в течение часа с последующим отмыванием значительно подавляет образование МЛР, в то же время обработка теми же дозами гистамина мастоцитов не меняет или даже увеличивает число МЛР. Таким образом, можно предполагать, что в реакции розеткообразования с тучными клетками принимают участие прежде всего лимфоциты, несущие рецепторы к гистамину.

Способность мастоцитов образовывать розетки с иммунокомпетентными клетками позволяет думать, что это их свойство имеет определенное значение в регуляции иммунного ответа. Об этом свидетельствуют данные о влиянии иммунизации на образование МЛР. Нами показано, что число розеткообразующих мастоцитов увеличивается у крыс через 5 и, в меньшей степени, через 13 дней после внутрибрюшинного введения 2×10^8 эритроцитов барана. В то же время при подкожной иммунизации той же дозой антигена количество розеткообразующих мастоцитов уменьшается по сравнению с контролем (25,8% и 13% соответственно). По-видимому, такая зависимость изменений способности мастоцитов образовывать МЛР от способа иммунизации связана с непосредственным участием мигрирующей субпопуляции тучных клеток в развитии иммунного ответа. При непосредственном контакте тучных и лимфоидных клеток, по всей вероятности, обеспечивается наиболее эффективная модуляция функций последних даже в тех случаях, когда биологически активные продукты дегрануляции мастоцитов еще не накапливаются в межклеточном пространстве.

Своеобразной формой взаимодействия лимфоцитов и мастоцитов является взаимодействие, осуществляемое в процессе дифференцировки последних из клеток лимфоидного ряда.

Формирование тучных клеток из тимоцитов мыши, помещенных на фидерный слой фибробластов, показано в экспериментах *in vitro* [9], в которых было отмечено активное митотическое деление дифференцирующихся тучных клеток.

Такие же результаты были получены Ишизака и соавт. [10], выявившими при культивировании клеток тимуса с или без фидерного монослоя фибробластов дифференцировку из тимоцитов в тучные клетки, связывающие меченый *Ig E*. Мастоциты в этих условиях могли развиваться только из клеток сравнительно молодых животных. Полученные данные свидетельствуют о том, что в тимусе содержатся предшественники тучных клеток. Авторы предполагают существование в этом органе фактора, ответственного за дифференцировку мастоцитов из клеток-предшественников.

Основываясь на результатах указанных исследований и данных о том, что у бестимусных мышей при нормальном или увеличенном содержании мастоцитов в подкожной соединительной ткани, они почти полностью отсутствуют в кишечнике, а трансплантация тимуса от нормальных мышей устраняет этот дефицит, Бернет [5] высказал гипотезу о наличии двух типов мастоцитов, по крайней мере один из которых является постмитотической формой определенной субпопуляции Т-лимфоцитов и принимает участие в иммунологических реакциях. В пользу этого предположения свидетельствуют

выявленное нами уменьшение числа МЛР, образуемых мастоцитами неонатально тим-эктомированных крыс, и тот факт, что не все тучные клетки, даже при максимальном до-бавлении к ним способных к реакции тимоцитов, могут образовывать розетки.

Литература

1. Гюллинг Э. В., Никольский И. С., Дюговская Л. А. Масто-лимфоцитарные розетки.— ДАН УССР, серия В, 1978, № 9, с. 851—853.
2. Попова Г. Н. Циклические нуклеотиды.— Арх. пат., 1976, 38, № 7, с. 78—89.
3. Bach M. K., Bach S., Brashler J. R., Ishizaka T., Ishizaka K. On the nature of the presumed receptor for Ig E on mast cells. V. Enhanced binding of 125 I-labelled Ig E to cell-free particulate fractions in the presence of protease inhibitors.— Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol., 1978, 56, № 1, p. 1—13.
4. Burnet F. M. Mast cells in the thymus of NZB mice.— J. Path. Bact., 1965, 89, № 1, p. 271—284.
5. Burnet F. M. The probable relationship of some or all mast cells to the T-cell system.— Cell. Immunol., 1977, 30, № 2, p. 358—360.
6. Csaba G., Txörök O. Physiology of mast cells. V. Lymphocyte-mast cells peripolexis.— Acta Biol. Acad. Sci. Hung. 1974, 25, № 1—2, p. 131—133.
7. De Cock W., De Cree J., Verhaegen H. Restoration by levamisole of histamine-inhibited E rosette formation of T-lymphocytes of patients with allergie.— Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol., 1977, 54, № 2, p. 176—182.
8. Fallah H. A., Mailard J. L., Voisin G. A. Regular mast cells. I. Suppressive action of their products on an in vitro primary immune reaction.— Ann. Immunol., 1975, 126, C, p. 669—682.
9. Ginsburg H. The in vitro differentiation and culture of normal mast cells from the mouse thymus.— Ann. N. Y. Acad. Sci., 1963, 103, p. 20—39.
10. Ishizaka T., Okudaira H., Mauser L. E., Ishizaka K. Development of rat mast cells in vitro. I. Differentiation of mast cells from thymus cells.— J. Immunol., 1976, 116, № 3, p. 745—754.
11. Ishizaka K., Temioka H. Mechanism passive sensitization. Presence of receptors for IgE on monkey mast cells.— J. Immunol., 1971, 107, № 4, p. 971—978.
12. Ishizaka T., Soto C. S., Ishizaka K. Mechanism of passive sensitization. III. Number of IgE molecules and their receptor sites on human basophil granulocytes.— J. Immunol., 1973, 111, № 2, 500—511.
13. Kedar E., Bonavida B. Histamine receptor-bearing leukocytes (HRL). I. Detection of histamine receptor-bearing cells by rosette formation with histamine-coated erythrocytes.— J. Immunol., 1974, 113, N 5, p. 1544—1552.
14. Lichtenstein L. M. Inhibition of histamine release by histamine controlled by H_2 receptor.— Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol., 1975, 49, № 1—2, p. 143—152.
15. Melmon K. L., Bourne H. R., Weinstein Y., Sela M. Receptor for histamine can be detected on the surface of selected leukocytes.— Science, 1972, 177, N 4050, s. 707—712.
16. Melmon K. L., Bourne H. R., Weinstein Y., Shearer G. M., Kram J., Bauminger S. Hemolytic plaque formation by leukocytes in vitro. Control of vasoactive hormones.— J. Clin. Invest., 1974, 53, № 1, p. 13—21.
17. Plaut M., Lichtenstein L. M., Henney C. S. Properties of a subpopulation of T cells bearing histamine receptor.— J. Immunol., 1975, 55, N 4, p. 856—874.
18. Rochlin R. E., Greineder D., Littman B. H., Melmon K. L. Modulation of cellular immune function in vitro by histamine receptor-bearing lymphocytes: mechanism of action.— Cell. Immunol., 1978, 37, № 1, p. 162—173.
19. Shearer G. M., Melmon K. L., Weinstein Y., Sela M. Regulation of antibody response by cells expressing histamine receptors.— J. Exp. Med., 1972, 136, № 5, p. 1302—1307.
20. Singh U., Owen J. J. Studies on the maturations of thymus stem cells. The effects of catecholamines, histamine and peptide hormones on the expression of T cell alloantigens.— Eur. J. Immunol., 1976, 6, N 1, p. 59—62.
21. Strannergard I. L., Strannergard O. Increased sensitivity of lymphocytes from atopic individuals to histamine-induced suppression.— Scand. J. Immunol., 1977, 6, № 12, p. 1225—1231.
22. Voisin G. A. Suppressor cells and enhancing antibodies, immune agents of the facilitation reaction.— Immune Reactivity Lymphocytes. Develop. Exp. ant. Contr., 1976, p. 645—648.
23. Weinstein J., Sela M. Receptors for histamine can be detected on the surface of selected leukocytes.— Science, 1974, 184, № 4 132, p. 19—23.
24. Weinstein Y., Melmon K. L. Control of immune responses by cyclic AMP and lymphocytes that adhere to histamine columns.— Immunol. Communs., 1976, 5, № 5, p. 401—416.

Киевский институт отоларингологии

Поступила в редакцию
15. I. 1979 г.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 615.361.438:612.017.1:612.112.94

М. Б. Самбур, Г. П. Кравчук

ВЛИЯНИЕ ТИМОЗИНА НА СПОСОБНОСТЬ ПРОГРЕТЫХ ТИМОЦИТОВ МОРСКОЙ СВИНКИ К РОЗЕТКООБРАЗОВАНИЮ

Известно, что один из гормонов тимуса — тимозин индуцирует появление на незрелых клетках лимфоидного ряда маркерных рецепторов *T*-лимфоцитов [2, 3, 4], а также увеличивает количество *E*-РОК, образуемых лимфоцитами крови больных с иммунодефицитными состояниями [1, 5, 10].

Мы исследовали влияние тимозина на способность к розеткообразованию тимоцитов, прогретых при 45°С. Как показано Мендес и др. [8], при данной температуре рецепторные структуры, принимающие участие в образовании розеток, отделяются от клеточных мембран, в результате чего способность их к розеткообразованию резко уменьшается.

Методика исследований

Из тимусов морских свинок весом 200—300 г получали взвесь лимфоцитов в среде 199 или растворе Хэнкса посредством измельчения железы, фильтрования через двухслойный нейлоновый фильтр и отмывания клеток однократным центрифугированием в течение 5 мин при 1000 об/мин. Взвесь тимоцитов в концентрации 1×10^6 клеток/мл по 1 мл прогревали в круглодонных центрифужных пробирках в течение 1 ч при 45°С, отмывали питательной средой и добавляли к ним 30×10^6 отмывтых свежих эритроцитов кролика, доводя общий объем до 1,5 мл раствором Хэнкса, содержащим (опыт) или не содержащим (контроль) тимозин, инкубировали 1 ч при 4°С или 37°С, центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин и оставляли при 4°С на ночь. Для определения количества розеток клетки осторожно ресуспендировали и подсчитывали РОК в камере Горяева без предварительного разведения, считая розеткой образование из лимфоцита и присоединившихся к нему трех и более эритроцитов. Полученное число РОК выражали в процентах по отношению к количеству РОК, образуемых непрогретыми тимоцитами.

Результаты исследований и их обсуждение

Инкубацию прогретых тимоцитов с тимозином проводили параллельно при температуре 4°С и 37°С (рис. 1). Из полученных результатов видно, что число РОК, выявляемых после инкубации с различными дозами тимозина при температуре 37°С, значительно превосходит определяемое после инкубации при 4°С.

Исследование зависимости числа восстановленных РОК от времени инкубации с 500 мкг/мл тимозина (рис. 2) показало, что количество РОК под влиянием тимозина при 37°С увеличивается в течение длительного времени, достигая максимума через 40—60 мин инкубации, в то время как при 4°С соединение с лимфоцитами завершается в основном уже в течение 10 мин.

Показано, что на восстановление числа РОК при температуре 37°С существенно влияет ингибитор гликолиза — моноиодацетат (рис. 3). Его присутствие в инкубируемой клеточной взвеси наряду с 500 мкг/мл тимозина приводит к снижению числа РОК с 42 до 8%, тогда как добавление моноиодацетата к суспензии клеток, инкубируемой при 4°С не оказывает ингибирующего действия на процесс восстановления розеткообразования.

Проведенные эксперименты позволяют считать, что восстановление тимозином розеткообразующей способности прогретых тимоцитов обусловлено по крайней мере двумя различными процессами. При 4°С Т-лимфоциты вновь приобретают способность образовывать розетки за счет фиксации на поверхности клеток рецепторных образований, присутствующих в инкубируемой среде, источником которых является тимозин [8].

В результате инкубации при 37°С количество РОК увеличивается, по-видимому, не только вследствие фиксации на поверхности клеток предсуществующих в тимозине

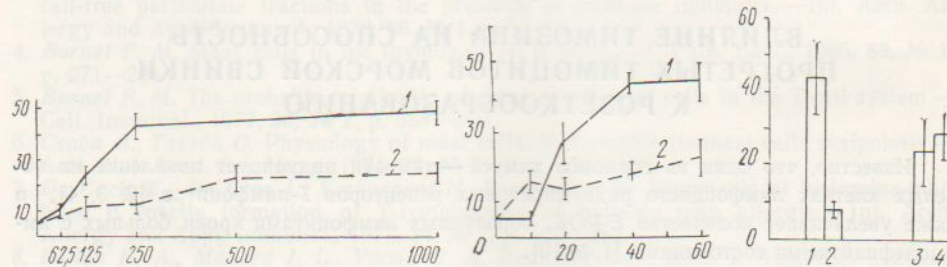


Рис. 1. Изменение количества розеткообразующих клеток среди прогретых при 45°С тимоцитов, обработанных различными дозами тимозина ($n=7$).

1 — инкубация при 37°С, 2 — инкубация при 4°С. По вертикали — количество РОК, в %, по горизонтали — количество тимозина в мкг/мл.

Рис. 2. Зависимость количества восстановленных РОК от времени инкубации с тимозином ($n=5$).

По горизонтали — время инкубации, в мин. Остальные обозначения см. рис. 1.

Рис. 3. Влияние моноиодацетата на восстановление тимозином розеткообразующей способности прогретых при 45°С тимоцитов морской свинки ($n=5$).

1 — инкубация с тимозином при 37°С, 2 — инкубация с тимозином и моноиодацетатом при 37°С, 3 — инкубация с тимозином при 4°С, 4 — инкубация с тимозином и моноиодацетатом при 4°С. По вертикали — количество РОК, в %.

рецепторных структур, но и вследствие их активной выработки в прогретых лимфоцитах. Как известно, гормоны тимуса, в частности тимозин, способны активировать внутриклеточные процессы, повышая уровень циклического аденозин-3', 5'-монофосфата [6, 7, 9]. Активированная клетка приобретает способность синтезировать новые рецепторные образования, которые, появляясь на клеточной мембране, возвращают ей способность формировать розетки с эритроцитами.

Литература

1. Гюллинг Э. В. Клинико-экспериментальное обоснование применения препаратов тимуса для лечения инфекционных и аллергических заболеваний органов дыхания, обусловленных изменениями тимусзависимой системы иммунитета. — Журнал ушных, горловых и носовых болезней, 1977, № 6, с. 53—57.
2. Гюллинг Э. В. Роль тимуса в дифференцировании клеток лимфоидного ряда. — Физиол. журн., 1977, 23, № 6, 847—851.
3. Gjulling E. V., Nikolsky I. S. Stimulation of antibody synthesis by partially purified thymus extract. — Journal of Hygiene, Epidemiology, microbiology and Immunology, 1977, 21, № 2, p. 66—71.
4. Никольский И. С. О возможности регуляции иммунологической активности лимфоидной системы факторами вилочковой железы. — Журнал ушных, горловых и носовых болезней, 1973, № 6, с. 3—5.
5. Bach J. F. Thymic hormones — from myth to fact. — Clinical Immunology and Immunopathology, 1976, N 5, p. III—VIII.
6. Bach J. F. The mode of action of thymic hormones and its relevance to T-cell differentiation. — Transplantation Proceedings, 1976, 8, N 2, p. 234—248.
7. Bach M. A., Tournier C., Bach J. F. Regulation of Θ -antigen expression by agents altering cyclic AMP level and by thymic factor. — Annals of New York Academy of Science, 1975, 249, p. 316—326.
8. Mendes N. F., Saraiva P. J., Santos O. B. O. Restorative effect of normal human serum, transfer factor and thymosin on the ability of heated human lymphocytes to form rosettes with sheep erythrocytes. — Cellular Immunology, 1975, 17, p. 560—566.

9. Trainin N., Kook A. I., Umial T., Albala H. The nature and mechanisms of stimulation of immune responsiveness by thymus extracts.— Annals of New York Academy of Science, 1975, **249**, p. 349—361.
10. Wara D. W., Amman A. J. Activation of T-cells rosettes in immunodeficient patients by thymosin.— Annals of New York Academy of Science, 1975, **249**, p. 308—315.

Киевский институт отоларингологии

Поступила в редакцию
28. IX 1978 г.

УДК 612.017.1:615.363.018

Н. П. Коврикова

ВЛИЯНИЕ СУММАРНОЙ ДНК НА ФОРМИРОВАНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИОННОГО ИММУНИТЕТА У КРОЛИКОВ

Открытие исключительно важной роли нуклеиновых кислот в биосинтезе белка обусловило большой интерес патофизиологов, иммунологов и биохимиков к выяснению функциональной роли этих соединений в иммунологических реакциях организма, в частности, в трансплантационном иммунитете.

В наших предыдущих исследованиях [3, 4] было показано, что формирование трансплантационного иммунитета сопровождается изменениями в содержании нуклеиновых кислот в лимфоидной ткани, причем повышение суммарного количества РНК и ДНК предшествует пику обнаружения антител в сыворотке крови.

Придерживаясь точки зрения, что все процессы жизнедеятельности обусловлены свойствами биологических макромолекул, а развитие трансплантационного иммунитета реализуется на молекулярном уровне, можно предположить, что введенная животному аллогенная суммарная ДНК в организме реципиента, используя в качестве матрицы, «запустит» гомологичный биосинтез белков, оказывающих влияние на продолжительность жизни кожного лоскута.

Однако возможность полноценной реализации в клетке генетической информации экзогенных ДНК исследована недостаточно, а имеющиеся в этом направлении работы крайне разноречивы [5, 7, 13, 14]. В то же время положительные результаты генетической трансформации с помощью нуклеиновых кислот у бактерий служат основанием для изучения этого явления у млекопитающих.

Мы выделяли ДНК из лимфатических узлов интактных кроликов и изучали ее влияние на длительность приживания кожного аллотрансплантата.

Методика исследований

Препараты ДНК получали спиртово-детергентным методом по [11] с последующей очисткой и пересаживанием в этиловом спирте. Анализ полученных препаратов показал, что спектр поглощения в ультрафиолете имеет максимум при 260 нм и характеризуется отношением $E_{260}/E_{230}=2.0-2.6$; $E_{260}/E_{280}=1.8-1.88$, что говорит о нативности и чистоте используемых ДНК. Примеси белка, определенные по [12], составляли менее 1%, РНК — 5—8%. Судя по седиментограмме в градиенте плотности сахарозы, наибольший класс молекул представлен одним пиком.

ДНК растворяли в стерильном стандартно-солевом растворе (0,15M NaCl + 0,015 M лимоннокислый натрий) и вводили внутривентриально из расчета 100 мг/кг за день и в день пересадки аллогенной кожи. Контролем служили кролики, которым внутривентриально вводили ту же дозу стандартно-солевого раствора. Донорский кожный лоскут размером 2×2 см пересаживали на ухо кролика.

Кроликов-реципиентов обследовали в динамике на 3, 7, 14, 21 дни после пересадки и определяли содержание гемолизинообразующих клеток в периферической крови с эритроцитами донора по [9] и розеткообразования в аллосистеме [10]. За розетку принимали скопление вокруг лимфоцита, содержащее три и более эритроцитов донора, но при этом розетки не дифференцировали. Кроме того, определяли активность кислой ДНКазы в сыворотке крови [8].

Опыты проведены на 14 кроликах породы шиншилла, весом 1,9–2,1 кг. В качестве доноров использовались самки. Полученные данные подвергались статистической обработке по [6] с использованием непараметрического критерия «U» [2].

Результаты исследований и их обсуждение

Установлено, что продолжительность жизни аллотрансплантата в контроле, т. е. на фоне предварительного двукратного введения стерильного стандартно-солевого раствора, в среднем составляет $12,0 \pm 1,1$ дня, тогда как при введении ДНК интакт-

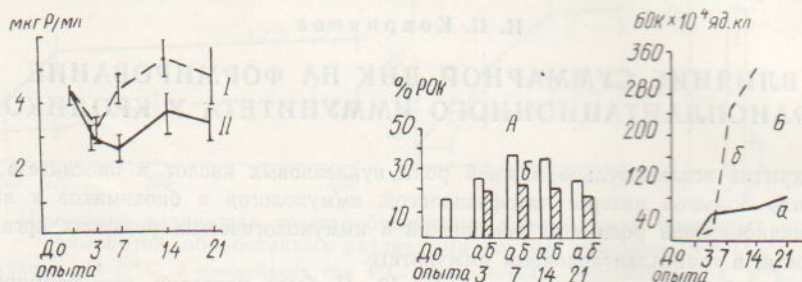


Рис. 1. Активность кислой ДНКазы при пересадке кожи на фоне введения ДНК интактных лимфоузлов (I) и стандартно-солевого раствора (II). По горизонтали — дни после пересадки.

Рис. 2. Содержание розеткообразующих (А) и бляшкообразующих (Б) клеток в периферической крови кроликов после аллотрансплантации кожи. а — на фоне внутрибрюшинного введения стандартно-солевого раствора; б — 100 мг/кг ДНК, выделенных из клеток интактных лимфатических узлов кроликов. По горизонтали — дни после пересадки.

ных лимфатических узлов — $26,0 \pm 1,2$ дня ($p < 0,001$). Следовательно, при применении ДНК интактных лимфатических узлов в дозе 100 мг/кг отмечается удлинение срока жизни аллотрансплантата.

В динамике наблюдения обнаружено изменение деполимеразной активности сыворотки крови реципиентов на третий и седьмой дни после пересадки по сравнению с исходными данными (рис. 1). Так, на третий день, независимо от качества внутрибрюшинно вводимого раствора, наблюдалось снижение ДНКазной активности. К седьмому дню после аллотрансплантации низкие показатели сохранялись только у животных контрольной группы, тогда как на фоне введения ДНК, выделенной из интактных лимфатических узлов кроликов, уровень деполимеразной активности сыворотки крови был близок к исходным данным. В последующие сроки наблюдения, обнаруженные колебания ферментативной активности статистически недостоверны. Можно предположить, что снижение активности кислой ДНКазы сыворотки крови в ранние сроки после трансплантации связано с действием аллотрансплантата, а не внутрибрюшинно вводимого раствора ДНК, поскольку и в опыте, и в контроле на третьи сутки изменения были однотипными и сохранялись на этом уровне до семи суток только в контроле. В то же время на седьмой день после пересадки у подопытных кроликов активность ДНКазы II увеличивалась, приближаясь к исходным данным и сохраняясь на высоком уровне до 14 дня наблюдений. Повышение функциональной активности кислой ДНКазы, возможно, обусловлено усиленной деградацией введенных аллогенных дезоксирибонуклеиновых кислот.

На третьи сутки после аллотрансплантации в периферической крови обследуемых реципиентов отмечается увеличение количества гемолизинирующих клеток с эритроцитами донора, причем в контроле их уровень достоверно выше, чем в условиях предварительного внутрибрюшинного введения ДНК, выделенной из интактных лимфатических узлов кроликов (рисунок 2, Б). Начиная с седьмых суток бляшкообразование у животных опытной группы становится значительно выше, чем в контроле и продолжает расти до 14 дня. К 21 сут наблюдения количество БОК в пери-

ферической крови у всех животных сохраняется на высоком уровне по сравнению с исходным количеством. Следовательно, аллотрансплантация кожного лоскута на фоне внутрибрюшинного введения ДНК интактных лимфоузлов уже с седьмых суток вызывает более выраженную, по сравнению с контролем, активацию показателей гуморального иммунитета, которая сохраняется до 21 дня наблюдений.

Кроме того, в условиях эксперимента обнаружено изменение процентного содержания розеткообразующих клеток в периферической крови кроликов контрольной и опытной групп. Так, после аллотрансплантации кожного лоскута на фоне введения стандартно-солевого раствора отмечается статистически достоверное увеличение количества РОК на 7 и 14 сут (рис. 2, А). При предварительном введении ДНК интактных лимфатических узлов процент розеткообразующих клеток во все сроки наблюдения сохраняется на уровне близком к исходному, то есть происходит торможение клеточного иммунного ответа на донорский антиген. Последнее, по-видимому, связано с каким-то еще неизвестным действием нашего препарата. Возможно, при введении ДНК макромолекулярные взаимодействия оказывают блокирующее влияние на генные локусы клеток донора, приводящие к нарушению синтеза специфических белков-антител.

Таким образом, на основании полученных экспериментальных данных можно заключить, что предварительное двукратное внутрибрюшинное введение суммарной ДНК, выделенной из клеток интактных лимфатических узлов, в дозе 100 мг/кг удлиняет продолжительность жизни аллотрансплантата кожи кролика более чем в два раза. Наряду с этим обнаружено изменение показателей, характеризующих состояние гуморального и клеточного иммунитета, причем, в условиях нашего опыта выраженность проявлений гуморальных реакций больше, чем клеточных. Отсутствие повышения деполимеразной активности сыворотки крови в ранние сроки наблюдения, по нашему мнению, может свидетельствовать о том, что введенный препарат начинает активно разрушаться между третьими и седьмыми сутками после пересадки.

Наши предварительные данные, в какой-то степени, подтверждают ранее высказанное предположение [1] о том, что под влиянием новой генетической информации изменяется функциональная способность клеток реципиента и может возникнуть взаимная толерантность.

Выводы

1. Предварительное двухразовое внутрибрюшинное введение аллогенной ДНК интактных лимфоузлов в дозе 100 мг/кг вызывает пролонгацию жизни кожного трансплантата у кроликов и на седьмые сутки после пересадки активирует кислую ДНКазу сыворотки крови.
2. В условиях опыта изучаемые показатели гуморального и клеточного иммунитета изменяются неравнозначно. На 7—14 сут после пересадки количество антителообразующих клеток в периферической крови значительно увеличивается, тогда как процентное содержание розеткообразующих клеток изменяется незначительно.

Литература

1. Антоненко В. Т. Взаимная комплементарность и трансплантационный иммунитет. Роль трансформации антигенности в преодолении тканевой несовместимости. — Патологическая физиология тканевой несовместимости. М.: Полиграфист, 1976, с. 5—9.
2. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медико — биологических исследованиях. — Л.: Медицина, 1973. — 141 с.
3. Коврикова Н. П. Патогенез несовместимости аллогенного костного мозга на фоне гипореактивных состояний: — Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — Киев, 1974. — 23 с.
4. Коврикова Н. П. Участие нуклеиновых кислот в формировании трансплантационного иммунитета. — Тезисы докладов II Всесоюзного симпозиума по ранним проявлениям тканевой несовместимости. М., 1976, с. 165.
5. Климов В. Ю. Изучение иммунологических свойств препаратов гомологичных ДНК: Автореферат дис. ... канд. биол. наук. — М., 1970. — 23 с.

6. Монцевичюте-Эрингене Е. В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе.— Патол. физиол. и эксперим. терапия, 1964, № 4, с. 71—78.
7. Шутко А. Н., Шатинина Н. Н. Об информационной активности экзогенной ДНК в облученных клетках.— Укр. биох. журн., 1977, 49, № 2, с. 42—48.
8. Шапот В. С., Чудинова И. А., Кречетова Г. Д. Методы выделения и определения активности нуклеаз.— В кн.: Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1964, с. 267—277.
9. Cunningham A. Method of increased sensitivity for detecting single antibody forming cells.— Nature, 1965, 207, p. 1106—1107.
10. Haskill J. J., Elliott B. E., Karbel R., Axelrod M. A., Bdingeor B. Classification of thymus-derived and marrow derived lymphocytes by demonstration of their antigen binding characteristics.— J. Exp. Med., 1972, 135, N 6, p. 1410—1415.
11. Kay E. R. M., Simmons N. S., Dounce A. L. An improved preparation of sodium desoxyribonuclease.— J. Am. Chem. Soc., 1952, 74, N 7, p. 1724—1726.
12. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, 193, p. 265—275.
13. Vorbroadt A., Wilczok T., Schneiberg Kr., Gorski T. Losy obcokomorkowego DNA w ustroju muszypopodaniu dootrzewnum, — Przegl. lekars., 1964, 2, N 9, p. 413—415.
14. Yoon C. H., Sabo J. Bases for failure to induce transformation in vivo with exogenous homologous DNA in mice.— Exp. Cell. Res., 1964, 34, N 3, p. 599—603.

Центральная научно-исследовательская
лаборатория Киевского института
усовершенствования врачей

Поступила в редакцию
15.I 1979 г.

УДК 612.017.1:616.36—002

Т. И. Галенко

РАЗВИТИЕ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА НА ВВЕДЕНИЕ ВАКЦИНЫ БЦЖ В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ

Известно, что поражение печени сопровождается нарушением иммунного статуса организма, в частности изменением реакций на негепатогенные антигены. Однако сведения эти в значительной степени противоречивы.

Мы изучали развитие гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) после введения вакцины БЦЖ в условиях различного функционального состояния печени. Введение животным больших доз антигепатотоксической сыворотки (АГПС) вызывает деструктивные изменения в печени, нарушение ее метаболизма и функций [1, 2]. АГПС, примененная в малых дозах на фоне токсического поражения печени, оказывает стимулирующее, нормализующее действие на структуру и функцию органа [6, 7, 8]. Нами были использованы две модели патологии печени. Первая модель создавалась введением животным больших доз гамма-глобулина, выделенного из АГПС (γ -АГПС); вторая — введением четыреххлористого углерода (токсическое поражение печени). Для решения поставленных задач был использован феномен ингибиции миграции макрофагов, который является одним из наиболее показательных тестов при исследовании клеточного иммунитета.

Работа выполнена на крысах-самках неинбредной линии Вистар. Сенсибилизацию животных вызывали однократным подкожным введением сухой вакцины БЦЖ в дозе 0,3 мг на крысу весом 200 г. Гамма-глобулин из сывороток выделяли по [9], содержание белка определяли по [11]. Большие дозы (21 мг белка на 100 г веса крысы) γ -АГПС вводили внутривенно ежедневно в течение пяти дней. В качестве контроля к действию γ -АГПС использовали γ -НКС (γ -глобулин, выделенный из нормальной кроличьей сыворотки) в аналогичных дозах. Токсическое поражение печени вызывали трехкратным, через два дня на третий введением 0,3 мл/100 г четыреххло-

ристого углерода (CCl_4). Малые дозы γ -АГЦС (1,75 мкг белка на 100 г веса) применяли на фоне поражения печени CCl_4 . γ -АГЦС вводили внутривенно на следующий день после каждого введения CCl_4 . Контролем к действию малых доз γ -АГЦС служили γ -НКС и сывороточный альбумин, примененные в аналогичных условиях и дозах. Реакцию торможения миграции макрофагов (РТММ) ставили по [10]. Макрофаги получали из перитонияльного экссудата крыс. Тест-антигеном служил туберкулин ППД из расчета 30 мкг/мл. Площадь миграции клеток из контрольных (без добавления туберкулина) и опытных (с добавлением туберкулина) капилляров измеряли планиметрически на миллиметровой бумаге с помощью фотоувеличителя. Индекс миграции (ИМ) вычисляли посредством деления площади миграции опытных капилляров на площадь миграции контрольных.

В I серии поражение печени вызвано введением больших доз γ -АГЦС. Животных разделили на группы: I — здоровые крысы, сенсibilизированные БЦЖ; II — животные, получавшие γ -АГЦС и БЦЖ; III — крысы, получавшие γ -НКС и БЦЖ; IV — интактные несенсибилизированные животные. Вакцину БЦЖ вводили в день последнего введения γ -АГЦС и γ -НКС. Через 10 дней животных умертвляли.

У всех здоровых несенсибилизированных крыс площадь миграции макрофагов занимала почти всю камеру как в чистой среде, так и в присутствии туберкулина. У здоровых сенсibilизированных (вакцинированных) крыс наблюдается значительное торможение миграции макрофагов в присутствии туберкулина. Индекс миграции по отношению к норме составляет в среднем 0,24 (табл. 1). Торможение миграции макрофагов было выражено в меньшей степени у крыс, которым предварительно вводили большие дозы γ -АГЦС ($\text{ИМ}_{\text{ср}}=0,34$). У крыс, которым вводили большие дозы γ -НКС, $\text{ИМ}_{\text{ср}}$ соответствовал 0,44. Полученные данные свидетельствуют о том, что гиперчувствительность замедленного типа развивается слабее в тех случаях, когда животные предварительно подвергались воздействию γ -АГЦС и γ -НКС.

II серия — другая модель патологии печени — токсическое поражение органа, БЦЖ вводили через день после первого введения CCl_4 . Исследования были проведены на 12 сут после вакцинирования, что соответствовало 7 сут после последнего введения CCl_4 . Как известно, у крыс после введения CCl_4 развивается острое токсическое поражение печени с нарушением ее метаболизма. [3, 4, 5]. Характерной особенностью этого типа поражения печени являются параллельно идущие репаративные процессы.

У крыс с токсическим поражением печени мы наблюдали значительное торможение макрофагов. Индекс миграции составлял 0,30 (табл. 2), т. е. занимал промежуточное положение между ИМ у здоровых сенсibilизированных животных и у крыс после введения больших доз γ -АГЦС. Видимо, что развитие ГЗТ у крыс с токсическим поражением печени не нарушается, благодаря активным пролиферативным и восстановительным процессам, сопровождающимся оживлением лимфоидных элементов.

Мы применяли малые дозы γ -АГЦС на фоне токсического поражения печени. Как известно, АГЦС в малых дозах способствует нормализации функции печени, уси-

Таблица 1
Индекс миграции макрофагов при ГЗТ у здоровых крыс и у крыс после введения больших доз γ -АГЦС и γ -НКС

Статистические показатели	Норма	Здоровые+БЦЖ	γ -АГЦС+БЦЖ	γ -НКС+БЦЖ
	1	2	3	4
M	1	0,24	0,34	0,44
$\pm m$		0,0328	0,0291	0,0510
n	10	8	10	8
p			<0,05 (2—3)	<0,01 (2—4)

Таблица 2
Индекс миграции макрофагов при ГЗТ у здоровых крыс и крыс с поражением печени четыреххлористым углеродом

Статистические показатели	Норма	Здоровые + БЦЖ	CCl ₄ + БЦЖ	CCl ₄ + γ-АГЦС + БЦЖ	CCl ₄ + γ-НКС + БЦЖ	CCl ₄ + альбумин + БЦЖ
	1	2	3	4	5	6
<i>M</i>	1	0,24	0,30	0,05	0,20	0,036
$\pm m$		0,0328	0,0316	0,0197	0,0334	0,0370
<i>n</i>	10	8	8	8	8	9
<i>p</i>			>0,2 (2—3)	<0,001 (2—4)	>0,2 (2—5)	<0,05 (2—6)

ливаает пролиферативные процессы [6, 7, 8]. У крыс этой группы наблюдается почти полное торможение миграции макрофагов. Индекс миграции у некоторых животных равнялся нулю, т. е. миграция отсутствовала. Полученные данные могут свидетельствовать о стимулирующем действии малых доз γ-АГЦС на развитие гиперчувствительности замедленного типа. В качестве контроля на действие γ-АГЦС в аналогичных условиях были применены γ-НКС и сывороточный альбумин. У крыс, которым вводили на фоне токсического поражения печени малые дозы γ-НКС, индекс миграции составлял 0,20 (после введения одного CCl₄ ИМ = 0,24). У крыс после сочетанного воздействия CCl₄ и альбумина площадь миграции макрофагов была больше, чем во всех других случаях этой серии опытов, что свидетельствует о несколько ослабленном развитии ГЗТ.

Таким образом, малые дозы γ-АГЦС, способствующие нормализации функции и усиливающие пролиферативные процессы в печени при ее токсическом поражении, оказывают стимулирующее влияние на развитие иммунологических реакций, в частности на развитие гиперчувствительности замедленного типа на введение вакцины БЦЖ. Другие гетерогенные белки — нормальный γ-глобулин и сывороточный альбумин аналогичного действия не оказывают, что может свидетельствовать о специфическом воздействии на печень иммунного антигепатотоксического гамма-глобулина.

Разная степень развития гиперчувствительности замедленного типа при применении различных повреждающих печень агентов (белковой природы — специфического цитотоксического γ-глобулина, гетерогенного нормального γ-глобулина и небелковой природы — гепатотропного яда CCl₄), возможно, зависит от разного характера повреждения и последующего восстановления органа.

Литература

1. Алексеева И. М. Зміни білкового складу та активності трансаміназ сироватки крові і печінки щурів під впливом великих доз антигепатотоксичної сироватки та АГЦС. — Фізіол. журн. АН УРСР, 1968, 14, № 6, с. 774—781.
2. Бикоріз А. І., Кулик Г. І. Хронічне ураження печінки гепатотоксичними сироватками. — Фізіол. журн. АН УРСР, 1964, 10, № 2, с. 271—274.
3. Верин В. К. Изменение неспецифических эстераз печени крыс при отравлении организма четыреххлористым углеродом. — Арх. анат., гистол. и эмбриол., 1971, № 12, с. 57—60.
4. Громашевская Л. Л., Гетте З. П., Гусовский Я. М., Демченко В. И. Активность ферментов в сыворотке крови и печени при экспериментальном циррозе печени на разных этапах его развития. — Бюл. эксперим. биол. и мед., 1968, № 11, с. 42—46.
5. Громашевська Л. Л., Галенко Т. І. Вивчення активності органоспецифічних ферментів у тварин з ураженням печінки при введенні антигепатотоксичної сироватки. — Фізіол. журн. АН УРСР, 1976, 23, № 5, с. 611—615.
6. Зайченко А. П. Особенности действия цитотоксических сывороток на репаративную регенерацию печени. — Матер. XIII научн. конфер. по возрастн. морфологии, физиол. и биохимии (апрель, 1967) М., 1967, с. 141—142.
7. Король С. А., Родионов Г. А. Данные гистологического изучения печени у крыс разного возраста при сочетанном действии четыреххлористого углерода и гепато-

- цитотоксической митохондриевой сыворотки.— Патол. физиол. и эксп. терапия, 1965, № 2, с. 54—59.
8. Родионов Г. А., Король С. А. Некоторые данные о влиянии гепатоцитотоксической митохондриевой сыворотки на репаративную регенерацию печени у белых крыс.— Цитотоксины в соврем. медицине, 1966, 3, с. 47—55.
9. Кэбот Е., Мейер М. Экспериментальная иммунохимия.— М.: Медицина, 1968.—367 с.
10. George M., Vaughan J. H. In vitro cell migration as a model for delayed hypersensitivity.— Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1962, 111, N 2, p. 514—521.
11. Lowry O., Boserbrough N. J., Farr A. L., Raudal R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, 193, N 1, p. 265—275.

Отдел иммунологии и цитотоксических
сывороток Института физиологии
им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
19.VI 1979 г.

УДК 616.097:616.091.8.591.147.5+612.45.451

Л. П. Сизякина, Э. С. Гульянц, Г. А. Вилков

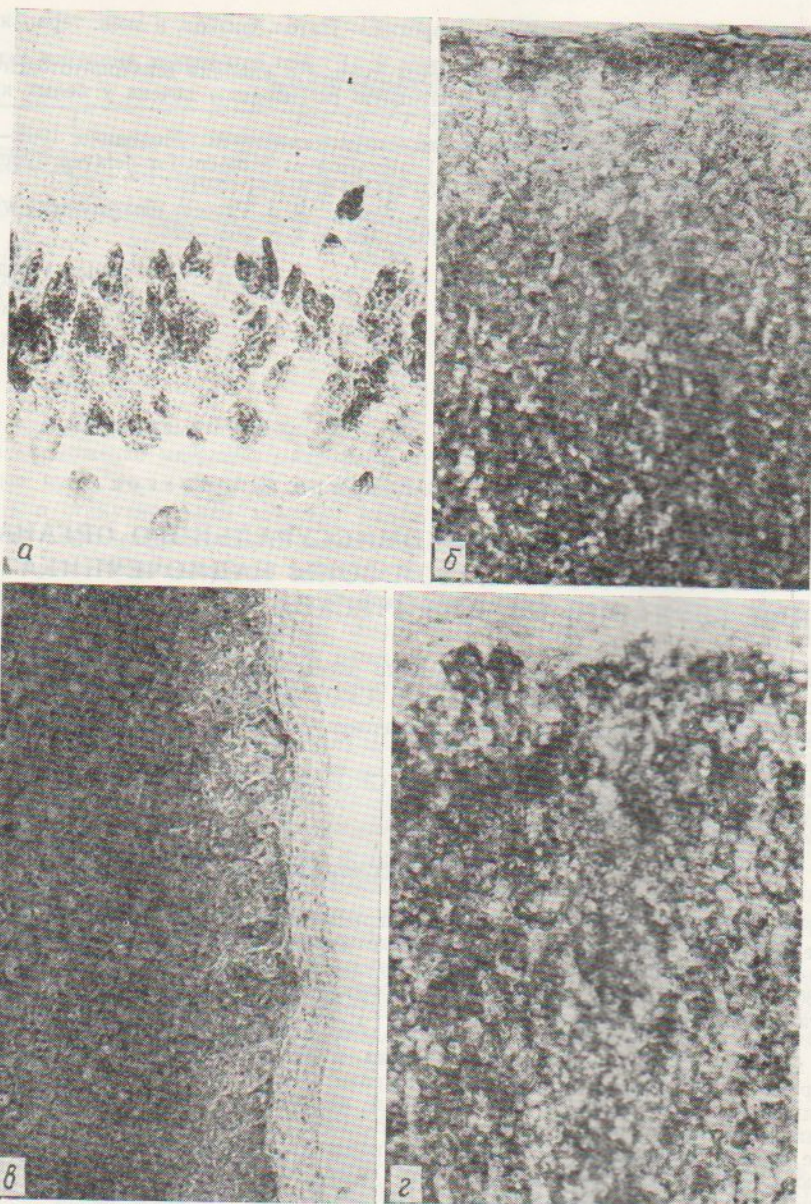
ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ СУБКОМИССУРАЛЬНОГО ОРГАНА МОЗГА И КЛУБОЧКОВОЙ ЗОНЫ НАДПОЧЕЧНИКА ПРИ ВВЕДЕНИИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АНТИСЫВОРОТКИ

В настоящее время имеются косвенные экспериментальные доказательства взаимных влияний субкомиссурального органа (СКО) мозга и клубочковой зоны надпочечника (КЗН), при этом СКО отводят значение структуры, регулирующей выработку альдостерона [2, 3, 5—7].

Мы изучали влияние антител против СКО мозга на гистофизиологическую характеристику СКО и КЗН.

Методика исследований

Исследование проведено на 30 белых крысах-самцах весом 180—200 г, которых распределили на три группы. I — интактные крысы; животным II группы вводили гамма-глобулин, содержащий антитела против СКО мозга в титрах 1:320 (РСК), 1:1280 (РПГА); крысам III группы — «нормальный» гамма-глобулин. Для получения гамма-глобулина, содержащего антитела против СКО мозга, использовали СКО мозга быка. Собакам, весом 10—12 кг, вводили эмульсию, состоящую из гомогената СКО мозга и полного стимулятора Фрейнда (5 мг/мл БЦЖ) в соотношении 1:1, трехкратно, с интервалом в одну неделю; кровь брали через неделю после последней иммунизации. Для контроля специфичности полученные сыворотки предварительно истощали тканью различных органов (печень, мозг), затем исследовали в них содержание антител в реакциях РСК и РПГА (контроль специфичности определяли с помощью РТПГА). После истощения тканью печени титр гамма-глобулина практически не изменялся, мозгом — снижался с 1:1280 до 1:640. СКО мозга падал до 1:20. Гамма-глобулин, содержащий антитела против СКО мозга, осаждали каприловой кислотой. «Нормальный» гамма-глобулин получали из сыворотки здоровых собак. Препараты вводили в хвостовую вену в дозе 0,1 мл/кг. Указанная дозировка обеспечивает ингибирующий эффект, двукратно уменьшенные дозы подобным эффектом не обладали. Спустя 24 и 72 ч после инъекции с помощью комплекса методов гистофизиологического и морфологического исследования учитывали реакцию СКО мозга и КЗН. В эпендимоцитах СКО мозга изучали активность кислой фосфатазы по Гомори, содержание РНК по Эйнарссону и альдегид-фуксифильного секрета (АФ) по Гомори. В нефиксированных криостатных срезах надпочечника выявляли активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), НАД-диафазы, сукцинатдегидрогеназы (СДГ), 3- β -олстероиддегидрогеназы [1]. Ширину клубочковой зоны измеряли окулярным микрометром (по 50 измерений у каждого животного). Относительную суммарную оптическую плотность кадра продуктов гистохимических реакций определяли на кадровом сканирующем микроспектрофотометре типа ЦИМФ-1 (площадь зонда 1 мкм²). Цифровые результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента.



Гистофизиологическая характеристика субкомиссурального органа мозга и клубочковой зоны надпочечника под влиянием антител против субкомиссурального органа

а — снижение активности кислой фосфатазы в эпэндимиоцитах СКО. Ок. 10, об. 40. Реакция Гомори; б — снижение активности Г-6-ФДГ в аденокортикоцитах КЗН. Ок. 10, об. 20. Реакция Гесса, Скарпелли; в — активность 3- β -олстероиддегидрогеназы в клетках КЗН. Ок. 10, об. 20. Реакция в модификации Н. М. Суриной; г — высокая активность НАД-диафоразы в субкапсулярных отделах КЗН. Ок. 10, об. 20. Реакция Нахласа, Уокера, Зелигмана.

Результаты исследований

При введении гамма-глобулина, содержащего антитела против СКО мозга, установлено значительное снижение активности кислой фосфатазы в цитоплазме эпендимоцитов СКО мозга (см. рисунок, а). Активность этого фермента служит достоверным и надежным критерием функциональной активности СКО мозга [4] и отражает изменение его морфо-функциональной характеристики. Обнаружено снижение содержания АФ-секрета, выявляющегося в виде мелких единичных гранул в апикальных отделах эпендимоцитов. Ослаблению секреторнообразовательной функции СКО мозга соответствует статистически достоверное снижение цитоплазматической РНК по сравнению с интактными животными ($9,5 \pm 0,25$ против $20,4 \pm 0,57$).

В большинстве аденокортикоцитов КЗН снижена активность СДГ и Г-6-ФДГ с сохранением умеренной активности лишь в клетках субкапсулярного слоя КЗН (см. рисунок, б). Снижение активности 3- β -олестероиддегидрогеназы характерно для всех аденокортикоцитов КЗН (см. рисунок, в). Распределение НАД-диафоразы практически не отличается от фонового уровня с некоторым возрастанием активности в субкапсулярных отделах и на границе с пучковой зоной (см. рисунок, г). В клетках пучковой зоны активность указанных ферментов достаточно высока и не отличается от исходного уровня. Количественная характеристика ферментной активности КЗН отличается высокой достоверностью для СДГ и Г-6-ФДГ при введении иммунного гамма-глобулина, содержащего антитела против СКО мозга (табл. 1). Указанная гистофизиологическая характеристика СКО и КЗН сохранялась в течение 3 сут после введения гамма-глобулина, содержащего антитела против СКО.

Таблица 1

Относительная суммарная оптическая плотность кадра продуктов гистохимических реакций в КЗН при введении иммунного гамма-глобулина ($M \pm m$)

Группа животных	Ферменты			
	СДГ	Г-6-ФДГ	НАД-диафораза	3- β -олестероиддегидрогеназа
I	$11,6 \pm 0,74$	$12,2 \pm 0,56$	$30,3 \pm 2,13$	$5,8 \pm 0,52$
II	$8,1 \pm 0,23$	$8,5 \pm 0,57$	$30,2 \pm 0,38$	$4,5 \pm 0,12$
$P_{(II-I)}$	$< 0,001$	$< 0,001$	$> 0,1$	$< 0,009$
III	$11,5 \pm 0,12$	$12,3 \pm 0,28$	$27,9 \pm 0,42$	$5,0 \pm 0,14$
$P_{(III-I)}$	$> 0,1$	$> 0,1$	$> 0,1$	$> 0,1$

При введении «нормального» гамма-глобулина существенных изменений ферментной характеристики аденокортикоцитов КЗН и эпендимоцитов СКО не обнаружено, не изменялась и ширина КЗН (табл. 2). Таким образом, введение гамма-глобулина, содержащего антитела против СКО мозга, сопровождается выраженным подавлением функциональной активности СКО мозга, что документируется угнетением секреторнообразовательной активности кислой фосфатазы и снижением содержания РНК в эпендимоцитах. Для гистофизиологии КЗН также характерно угнетение морфо-функционального состояния, что проявляется угнетением метаболизма аденокортикоцитов КЗН, в то время как ферментная характеристика клеток пучковой и сетчатой зон не отличается от фоновой. Таким образом, изменения функциональной активности СКО мозга и КЗН однонаправлены и сопоставимы с гистофизиологической характеристикой КЗН

Таблица 2

Ширина клубочковой зоны надпочечника при введении гамма-глобулина ($M \pm m$)

Группа животных	Ширина клубочковой зоны
I	$84,0 \pm 2,90$
II	$50,1 \pm 1,20$
$P_{(II-I)}$	$< 0,001$
III	$87,2 \pm 0,78$
$P_{(III-I)}$	$> 0,1$

при стереотаксическом разрушении мозга [2]. Однако иммунологическое подавление морфо-функционального состояния СКО мозга обладает рядом существенных преимуществ перед использованием стереотаксического метода, которые включают прицельность повреждения СКО мозга с сохранностью окружающих его структур, обратимость воздействия и его дозированность.

Таким образом, введение антисыворотки, полученной к СКО мозга, вызывает угнетение морфо-функциональной активности СКО и КЗН. Полученные результаты свидетельствуют о синергизме СКО и КЗН в сложной системе межгормональных отношений.

Л и т е р а т у р а

1. Пирс Э. Гистохимия.— М., 1962.—962 с.
2. Сизякина Л. П. Влияние разрушения субкомиссурального органа на клубочковую зону коры надпочечника.— Пробл. эндокринолог., 1975, 21, N 4, с. 60—62.
3. Сизякина Л. П. Гистофизиологическая характеристика структур субкомиссурального органа мозга и клубочковой зоны надпочечника при изменениях водно-солевого равновесия.— Пробл. эндокринолог., 1977, 23, № 3, с. 73—76.
4. Фиделина О. В. Изменения в субкомиссуральном органе крыс при отсутствии и избытке натрия в пище.— Бюл. эксперим. биол. и мед., 1973, 73, № 3, с. 116—119.
5. Czewzyk F. Ependymosecretion of the subcommissural organ in white rats during adrenal regeneration.— Folia morphol., 1974, 33, 2, p. 165—176.
6. Kimble J., Mollgard K. Evidence for basal secretion in the subcommissural organ of the adult rabbit.— Z. Zellforsch., 1973, 112, S. 233—239.
7. Palkovits M. The morphology and function of the subcommissural organ.— Budapest, 1965.
8. Peczely P., Muray T. The effect of KCl, NaCl, hydration and dehydration on the SCO of the domestic pigeon.— Acta biol. Hung., 1967, 18, N 2, p. 115—128.

Ростовский медицинский институт

Поступила в редакцию
26. VI 1978 г.

УДК 611.41/42:612.111.3

А. В. Караулов, В. Ф. Ликов, В. Н. Фраш

РЕАКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ МЫШЕЙ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ В Н-2 СИСТЕМЕ В НОРМЕ И ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ БЕНЗОЛОМ

Одним из методов, позволяющих оценивать реактивность лимфоидных клеток, является изучение активации синтеза ДНК в субпопуляции антигенреактивных клеток при их инкубации *in vitro* в смешанных культурах с облученными аллогенными лимфоцитами.

Мы изучали иммунный ответ клеток лимфоузлов и селезенки мышей В10D2 в норме и при иммунизации в Н-2 системе, а также мышей с бензольной интоксикацией (БИ). Данные литературы по этому вопросу единичны [4, 8, 12, 13]. Ранее нами были обнаружены количественные изменения лимфоидной ткани при иммунизации тимус-зависимым антигеном (эритроцитами барана) на фоне БИ [5, 6].

Методика исследований

Опыты проведены на мышах конгенных линий В10D2 (Н-2^d) и В10(Н-2^b). Одну часть мышей В10D2 иммунизировали однократно подкожно в пять точек асцитными клетками аллогенной саркомы МХ-11 (от линии В10) по 40—50 млн. клеток на мыш, другую часть — иммунизировали внутривенным введением 90—100 млн. клеток селезенки. БИ вызывали подкожным введением бензола в дозе 2 мл/кг через день в течение 3 нед [5]. Часть мышей с БИ иммунизировали клетками аллогенной опухоли, часть — клетками селезенки.

Реакцию смешанной культуры лимфоцитов (СКЛ) проводили микрометодом [8] в модификации [4]. Перенос проб на фильтры осуществляли после 112 ч культивирования в СКЛ и спустя 16 ч после добавления 1 мкКи ^3H -тимидина. Процент индекса стимуляции (ИС) синтеза ДНК в СКЛ оценивали отношением включения изотопа в аллогенные СКЛ к включению его в сингенные СКЛ. Клетки-стимуляторы облучали *in vitro* 1500 рад (Со. 80 рад/мин).

Цитотоксическую реакцию антител в присутствии комплемента морской свинки проводили по [7] в модификации [3]. Анти- θ -сыворотка мышей Акг против мышей СЗН, полученная по методу [10], убивала 25% клеток селезенки при ее разведении 1:32. Кроличья антисыворотка против иммуноглобулинов мышей была трехкратно адсорбирована клетками саркомы SaI [3] и убивала 38% клеток селезенки при разведении 1:32. Проводили также обработку каррагинином [9].

Результаты исследований

У мышей В10D2 в норме иммунный ответ клеток лимфоузлов в СКЛ оказался выше, чем ответ клеток селезенки (табл. 1). Иммунизация этих мышей аллогенной опухолью МХ-11 приводила к ослаблению иммунного ответа клеток лимфоузлов, не оказав влияния на реактивность клеток селезенки. Иммунизация аллогенной селезенкой резко ослабляла ответ клеток селезенки, тогда как ответ клеток лимфоузлов при этом практически не изменялся. Введение бензола снижало иммунный ответ клеток лимфоузлов, тогда как реактивность клеток селезенки практически не менялась.

Таблица 1
Реактивность лимфоидных клеток в СКЛ при иммунизации
в Н-2 системе и при БИ (индекс стимуляции, %)

Группа мышей	Лимфоидные клетки	
	селезенки	лимфоузлов
Норма	$26,4 \pm 2,6$	$41,5 \pm 1,3$
Иммунизированные опухолью МХ-11	$25,0 \pm 1,3$	$11,5 \pm 0,8^*$
Иммунизированные аллогенной селезенкой	$2,6 \pm 0,2^*$	$44,8 \pm 1,1$
Мыши с БИ	$22,4 \pm 1,9$	$16,9 \pm 1,8^*$

Примечание. Средние данные четырех опытов. $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$. * $p < 0,01$ по сравнению с группой нормальных мышей

В следующей серии опытов лимфоидные клетки селезенки и лимфоузлов иммунных мышей В10D2, получавших и не получавших бензол, добавляли к нормальным сингенным клеткам лимфоузлов для постановки реакции СКЛ в соотношении 1:2,5 с сохранением плотности клеток в культуре (табл. 2). Такое добавление приводило к снижению ответа в СКЛ, т. е. данный опыт воспроизводил известный феномен блокирования иммунными клетками синтеза ДНК в СКЛ [4], который был более выражен при добавлении клеток селезенки от мышей, иммунизированных аллогенной селезенкой. У животных с БИ эти соотношения резко менялись (табл. 2). Так, если добавление клеток селезенки от иммунизированных клетками селезенки мышей в норме сопровождалось угнетением реактивности клеток нормальных сингенных лимфоузлов, то добавление клеток селезенки мышей с БИ, иммунизированных селезенкой, приводило даже к некоторой активации синтеза ДНК. Иммунизация клетками опухоли МХ-11 на фоне БИ сопровождалась усилением феномена блокирования синтеза ДНК ($p < 0,01$).

Известно, что иммунизация аллогенной опухолью и селезенкой приводит к генерации клеток-супрессоров, способных блокировать реактивность нормальных синген-

Таблица 2
Влияние БИ на феномен блокирования иммунными клетками активации синтеза ДНК в нормальной СКЛ (индекс стимуляции, в %)

Источник клеток	Нормальные мыши	Мыши с БИ
Лимфоузлы мышей в норме	41,5±1,3	16,9±1,8
Лимфоузлы мышей, иммунизированных МХ-11	16,4±1,4*	7,8±0,9*
Селезенка мышей, иммунизированных селезенкой	3,9±0,4* ⁰	27,8±2,6* ⁰

Примечание. Средние данные четырех опытов, $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$. * достоверность по сравнению с мышами в норме, *⁰ достоверность по сравнению с мышами, иммунизированными саркомой МХ-11 ($p < 0,01$).

Таблица 3
Изучение природы клеток-супрессоров, индуцированных иммунизацией в Н-2 системе (индекс стимуляции, в %)

Супрессоры	Нормальные необработанные лимфоциты	Иммунные лимфоциты				
		необработанные	обработанные			
			нормальной мышечной сывороткой	анти-Ig сывороткой	анти-θ сывороткой	каррагинином
Индукцированные МХ-11	17,0±0,6	9,8±0,8*	8,6±0,1*	0,0±0,5*	8,9±1,5*	18,2±0,6
Индукцированные иммунизацией селезенкой	12,2±1,3	1,3±0,4*	2,2±0,2*	1,9±0,2*	8,7±1,0	2,0±0,6*

ных клеток в реакциях клеточного иммунитета [4]. Наши данные об особенностях этого явления у мышей в норме соответствуют данным литературы [11]. БИ оказывает разнонаправленное влияние на супрессивную активность фракции иммунных клеток селезенки и лимфоузлов.

Особенности разнонаправленного действия бензола на блокирование иммунными клетками синтеза ДНК в нормальной СКЛ могут быть связаны с его влиянием на клетки-супрессоры. Для проверки указанного предположения мы подвергли клетки СКЛ различным обработкам (см. табл. 3, где приведены результаты двух типичных опытов).

При обработке клеток лимфоузлов от животных, иммунизированных опухолью МХ-11, блокирующий эффект устранялся только каррагинином — веществом, специфически элиминирующим макрофаги [7]. Клетки-супрессоры, содержащиеся же во фракции иммунных лимфоцитов, взятых от животных, иммунизированных аллогенной селезенкой, специфически инактивировались анти-θ-сывороткой, т. е. они являются Т-клетками. Эти данные соответствуют литературным [12] в отношении мышей в норме. Что же касается БИ, то сопоставление показателей, приведенных в табл. 2 и 3 позволяет предположить, что при БИ затруднена генерация супрессоров Т-клеточной природы, тогда как супрессоры макрофагальной природы индуцируются, наоборот, значительно лучше. Эти сведения соответствуют ранее обнаруженному нами при БИ угнетению Т-клеточной системы иммунитета [5, 6]. Они соответствуют также результатам некоторых старых работ, в которых на основании цитологических и морфологических критериев сообщалось об активации макрофагальной системы при действии бензола [1, 15], что рассматривалось как признак компенсации в условиях подавле-

ния при БИ других механизмов клеточной защиты. Не исключено, что при БИ может происходить генерация новых клеток-супрессоров макрофагальной природы, подобно тому, как это описано при ряде воздействий, сопровождающихся активацией макрофагально-моноцитарной системы [13, 14]. Подтверждением этому служит значительная гипореактивность клеток мышей лимфоузлов с БИ. Возможно, имеет значение и способ введения агентов. Так, в наших опытах внутривенная иммунизация приводила к накоплению клеток-супрессоров преимущественно в селезенке, тогда как при подкожной иммунизации они накапливаются преимущественно в лимфоузлах. Не исключено, что подкожное введение, использованное в наших опытах, приводит к появлению клеток-супрессоров прежде всего в лимфатических узлах. Учитывая гаптенное действие бензола, такое предположение представляет значительный интерес и является предметом дальнейшего изучения.

Л и т е р а т у р а

1. Алешин Б. В., Бурштейн Ш. Л., Черняк Б. И. Кроветворные органы и ретикулоэндотелиальная система при алейкиях.— В сб.: Алиментарно-токсическая алейкия. Чкалов, 1947, с. 125—144.
2. Брондз Б. Д. О методиках реакции агглютинации клеток нормальных и опухолевых тканей и цитотоксической реакции *in vitro*.— Бюл. эксперим. биол. 1964, № 5, с. 64—69.
3. Брондз Б. Д., Катомина И. Ф. Происхождение эффекторных и розеткообразующих клеток при трансплантационном иммунитете у мышей.— Бюл. эксперим. биол. 1973, № 9, с. 69—72.
4. Брондз Б. Д., Хачикян Е. Я., Дризлих Г. И., Андреев А. В. Торможение иммунными лимфоцитами активации синтеза ДНК в смешанных культурах нормальных лимфоцитов *in vitro*.— Бюл. эксперим. биол. 1977, № 6, с. 723—725.
5. Караулов О. В., Фраш В. Н. Стан лімфоїдної тканини у мишей при імунізації і бензолній інтоксикації.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1976, № 5, с. 696—699.
6. Караулов А. В., Юшков Б. Г., Фраш В. Н. О действии бензола в условиях облученного организма (к механизму его радиомиметического действия).— Радиобиология, 1976, № 5, с. 791—794.
7. Corer P. A., O'Gorman P. The cytotoxic activity of isoantibodies in mice.— Transpl. bull., 1956, N 3, p. 142—146.
8. Glick J. L., Lockwood C., Williams J., Papermaster B. M., Burns A. A., Dutton A. C. Human serum as an economical substitute for fetal bovine serum in lymphoid cell cultures.— Transplantation, 1974, N 18, p. 86—96.
9. Lake W. W., Bice D., Schwartz H. J., Salvaggio J. Suppression of *in vitro*-induced lymphocyte transplantation by carrageenan, a macrophage-toxic agent.— J. Immunol., 1971, 107, p. 1745—1751.
10. Reif A. E., Allen J. W. V. The Akr thymic antigen and its distribution in leukemias and nervous tissues.— J. exp. med. 1964, 120, p. 413—433.
11. Rich R. R., Rich S. S. Suppression of mixed lymphocyte reactions by alloantigen-activated spleen localizing thymocytes.— Cell. immunol., 1976, 22, p. 358—368.
12. Sabbadini E. Regulation of cell-mediated cytotoxicity. I Augmentation of cell-mediated cytotoxicity induced by radiation.— J. exp. med., 1974, 140, p. 470—480.
13. Stiller R. A., Cerny J. Immunosuppression by spleen cells from leukemia. II. Studies on the mechanisms of suppression and failure to detect and extracellular suppressive product.— J. immunol., 1976, 117, p. 889—893.
14. Unanue E. M. Secretory function of mononuclear phagocytes (a review).— Amer. J. phatol., 1976, 83, p. 396—417.
15. Wirtschafter Z. T., Bischel M. G. Reticuloendothelial response to benzene.— Arch. environ. health, 1960, 21, p. 10—16.

Свердловский институт гигиены труда
и профессиональных заболеваний

Поступила в редакцию
17.XI 1977 г.

УДК 612.438.018.2: (612.813)

Л. Т. Ванюрихина, Т. К. Валусева, Т. Л. Жигайло,
А. А. Нуриджанова, Н. Н. Преображенский

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ТИМУСА — ТИМОПОЭТИНА, ТИМОЗИНА И ЛСВ НА НЕРВНО-МЫШЕЧНУЮ ПЕРЕДАЧУ

В последние годы из тимуса выделен целый спектр тимических гуморальных факторов, играющих важную роль в индукции дифференциации лимфопоэтических стволовых клеток в зрелые тимус-зависимые клетки (Т-клетки), способные включаться в иммунный ответ [5]. Между тем имеются данные о том, что тимус выполняет в организме и другие функции, изучение которых имеет немаловажное значение, т. к. с возрастом иммунологическая роль тимуса ослабевает и, естественно, усиливаются другие его функции, в частности, связанные с нейромедиаторным контролем.

Однако до последнего времени роль отдельных гуморальных препаратов, выделенных из тимуса, в осуществлении этого контроля изучена недостаточно. Один из них — тимопоэтин обладает свойством оказывать угнетающее действие на нервно-мышечную передачу, приводя к блокаде этого процесса [4].

Этому свойству тимопоэтина уделяют немаловажное значение при изучении *myasthenia gravis*, в патогенезе которой, как считают [1,9], лежит аутоиммунное поражение тимуса. Согласно имеющимся в литературе данным, при *myasthenia gravis* развиваются нарушения толерантности холиночувствительных рецепторов постсинаптических мембран [4]. Интересно, что в сыворотке крови больных с *myasthenia gravis* тимопоэтин не обнаружен [9].

Мы изучали влияние некоторых гормональных препаратов, выделенных из тимуса, на нервно-мышечную передачу.

Методика исследований

В работе использованы гормональные препараты из тимуса телят — тимопоэтин, тимозин и ЛСВ (лимфоцитстимулирующее вещество), наиболее изученные в настоящее время [1,2,5]. Опыты по изучению влияния этих веществ на нервно-мышечную передачу проведены на мышцах линии $C_{57} B1$, которым за 18 ч до эксперимента внутрибрюшинно вводили препараты тимуса в дозах (50 мг активного вещества в 0,1 мл физиологического раствора на животное), оказывающих стимулирующее действие на лимфопоэз. Контролем служили мыши той же линии, которым вводили такой же объем физиологического раствора.

Под нембуталовым наркозом (50 мг/кг внутрибрюшинно) отпрепаровывали мышечно-кожный нерв, перерезали его, и периферический конец помещали на биполярные серебряные электроды. Для раздражения нерва использовали электрические импульсы длительностью 0,2 мс и частотой 10, 100, 200/с супрамаксимальной силы. Потенциалы действия (ПД) нейромоторных единиц (НМЕ) двуглавой мышцы плеча отводили коаксиальным электродом и регистрировали на фотоплёнке с экрана катодного осциллографа.

Результаты исследований

Как показали ранее проведенные исследования, активная фракция, выделенная из ткани тимуса — тимопоэтин, при внутрибрюшинном введении в дозах 50 мг на животное оказывает угнетающее действие на нервно-мышечную передачу у мышей линии $C_{57} B1$ после 24 ч инкубирования. Применение высокочастотной стимуляции моторных волокон мышечно-кожного нерва позволило нам изучить особенности нервно-мышечной передачи при действии тимопоэтина и других гормональных препаратов тимуса.

Как показали исследования, частота раздражения 10/с воспроизводилась без трансформации нейромоторными единицами животных как контрольной, так и опытной групп. Различия проявлялись при частотах раздражения 100 и 200/с, НМЕ живот-

ных контрольной группы воспроизводили частоту 100 и 200/с без трансформации, хотя уже при 100/с наблюдалась депрессия второго и последующих потенциалов, более глубокая при частоте раздражения 200/с.

На рис. 1 приведена осциллографическая запись ПД НМЕ, зарегистрированных в одном из опытов при частоте стимуляции моторных волокон 10, 100 и 200/с и усред-

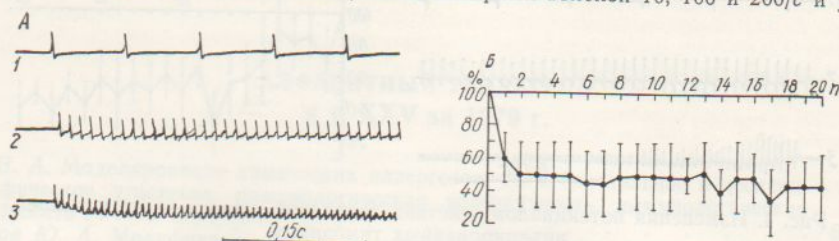


Рис. 1. Изменения потенциалов действия двуглавой мышцы плеча у мышей контрольной группы.

А — потенциалы действия двуглавой мышцы плеча при раздражении мышечно-кожного нерва с частотой 10/с (1), 100/с (2), 200/с (3). Б — усредненный график изменения амплитуды потенциалов двуглавой мышцы плеча в % по отношению к амплитуде первого потенциала при раздражении мышечно-кожного нерва с частотой 200/с; на горизонтали — порядковый номер потенциалов действия, на вертикали — величина амплитуды в %.

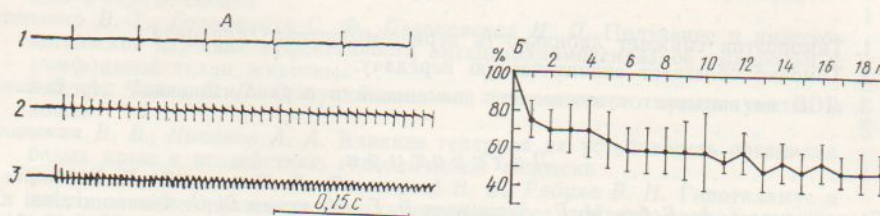


Рис. 2. Изменения потенциалов действия двуглавой мышцы плеча у мышей, инъецированных ЛСВ. Обозначения см. рис. 1.

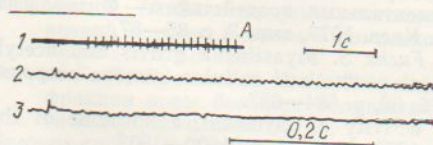


Рис. 3. Изменения потенциалов действия двуглавой мышцы плеча у мышей, инъецированных тимопентином. Обозначения см. рис. 1.

ненный график изменения амплитуды ПД НМЕ при частоте раздражения мышечно-кожного нерва 200/с. При построении графика использованы данные девяти опытов.

Через 18—24 ч после внутрибрюшинного введения ЛСВ, оказывающего активизирующее действие на лимфопоэз, мы не обнаружили существенных различий в лабильности нервно-мышечных соединений у контрольных и опытных животных. Однако, у последних при раздражении с частотой 200/с постактивационная депрессия глубже, чем у контрольных животных, что хорошо видно из усредненного графика (рис. 2, Б).

Внутрибрюшинное введение тимопентина в тех же дозах вызывало через 18—24 ч отчетливое угнетение нервно-мышечной передачи. Об этом свидетельствовало увеличение порога моторных волокон и появление трансформации ритма при частотах стимуляции 100/с. На рис. 3 приведены данные, иллюстрирующие сказанное. Видно, что уже при частоте 100/с наблюдается трансформация ритма и глубокая депрессия второго и последующих ПД, а при частоте 200/с НМЕ отвечают лишь на первый стимул.

Совершенно противоположный эффект на нервно-мышечную передачу оказывало внутрибрюшинное введение тимозина. В большинстве случаев у подопытных животных

мы отмечали заметное, длительное облегчение нервно-мышечной передачи, что выражалось потенциацией второго и последующих ответов при частоте стимуляции моторных волокон 100/с (рис. 4, А, 2). Аналогичную потенциацию можно было наблюдать и

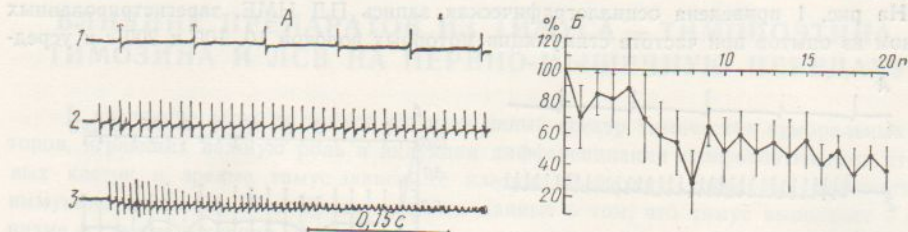


Рис. 4. Изменения потенциалов действия двуглавой мышцы плеча у мышей, инъецированных тимозином.
Обозначения см. рис. 1.

при более высокой частоте стимуляции моторных волокон, однако в этом случае длительность ее была намного короче (рис. 4, А, 3), после чего следовала постактивационная депрессия синаптической передачи.

Выводы

1. Тимопоэтин снижает лабильность нервно-мышечного аппарата.
2. Тимозин облегчает синаптическую передачу.
3. ЛСВ не вызывает существенных изменений в нервно-мышечной передаче.

Литература

1. Безвершенко І. А., Бойко М. Г., Лукашова Р. Г., Малижов В. О. Фізико-хімічні властивості лімфоцитотропного чинника тимуса.— Укр. біохім. журн., 1974, 46, № 3, с. 358—363.
2. Безвершенко І. А., Бикова Л. М., Лукашова Р. Г. Специфічна речовина тимуса, яка реагує з тимус-залежними антигенами.— Укр. біохім. журн., 1975, 47, № 1, с. 85—89.
3. Юсфина Э. З., Яковлева А. Н. Изменения содержания некоторых катионов в вилочковой железе в онтогенезе и при экспериментальных воздействиях.— Физиология, биохимия и патология эндокринной системы. Киев, 1973, вып. 3, с. 85—87.
4. Abramsky O., Aharonov A., Teitelbaum D., Fuchs S. Myasthenia gravis and acetylcholine receptor. Effects of steroids in clinical course and cellular immune response to acetylcholine receptor.— Arch. Neurol., 1975, 32, p. 684—687.
5. Goldstein A. L. Purification and biological activity of thymosin, a hormone of the thymus gland.— Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1972, 68, No7, p. 1800—1803.
6. Goldstein G. Isolation of bovine thymosin: a polypeptide hormone of the thymus.— Nature, 1974, 247, N5435, p. 11—14.
7. Goldstein G., David H., Schlesinger P. H. D. Thymopoietin and myasthenia gravis: neostigmine-responsive neuromuscular block produced in mice by a synthetic peptide fragment of thymopoietin.— Lancet, 1975, 11, N 7928.
8. Luckey D. Ed. Thymic hormones. University Park Press. Baltimore, London, Tokyo, 1973.—325 p.
9. Twomey J. I., Goldstein G., Lewis V. W., Bealmear P. M., Sood R. A. Bioassay determinations of thymopoietin and thymic hormone levels in human plasma.— Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 1977, 74, p. 2541.
10. Vanda A., Lindstrom L. J. M., Seybold M. E. Experimental autoimmune myasthenia: a model of myasthenia gravis in rats and guinea pigs.— J. Exp. Med., 1975, 141, N 6, p. 1375.

Киевский институт эндокринологии
и обмена веществ;
Институт физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
11.XII 1978 г.

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

к т. XXV за 1979 г.

Адо В. А. Моделирование химических алергозов, их избирательное и неспецифическое угнетение, иммунологическая толерантность, иммунологическая память	6	645
Акимов Ю. А. Модификация электрических характеристик и электрогенеза гигантских нейронов виноградной улитки некоторыми антибиотиками	2	170
Алексеева И. Н., Тимошенко Ю. Г. Содержание розеткообразующих клеток в селезенке и тимусе крыс при различном функциональном состоянии печени	6	699
Алферов Ю. М. Диффузионное сопротивление бислоистой липидной мембраны потоку кислорода	2	202
Антоненко В. Т., Бачинская Л. Ю., Городецкая С. Ф., Зюбина Н. П. Влияние антикардиальной антицитохромоксидазной сыворотки на микроциркуляцию в сердце собаки	1	30
Антоненко В. Т., Городецкая С. Ф., Пеньковская Н. П. Получение и иммунологическое изучение эффективности антицитохромоксидазной сыворотки к лимфоидной ткани животных	6	664
Бакай Э. А., Чайка С. П. О функциональной роли костного пузыря улитки у кошек	5	612
Баканская В. В., Никонов А. А. Влияние гепарина на устойчивость организма белых крыс к воздействию гипоксической гипоксии	4	348
Балицкий К. П., Векслер И. Г., Винницкий В. Б., Рябуха В. Н. Гипоталамус и действие неспецифических стимуляторов полисахаридной природы	1	85
Барабой В. А. Л. Х. Гаркави, Е. Б. Квакина, М. А. Уколова «Адаптационные реакции и резистентность организма»	1	99
Бариков Э. Ф. Оценка метаболических процессов донорского сердца в предтрансплантационном периоде путем определения критического уровня его обмена	4	431
Барченко Л. И. Электронномикроскопическое и цитохимическое изучение первичной реакции лизосом и комплекса Гольджи на действие малых доз специфических антител	6	715
Батрак Г. Е., Кущинская А. И. О сравнительной Na^+K^+ АТФазы микросомной фракции коры больших полушарий и таламуса собак в условиях глубокого эфирного наркоза	5	604
Белошицкий П. В. Транспорт и утилизация кислорода при гипотермии (Приэльбрусские беседы)	3	327
Бережная Н. М., Бордонос В. Г., Куюн Л. А., Яхимович Л. В. Экспериментальное моделирование аллергического поражения легких	6	658
Березовский В. А., Гойда Е. А., Мукалов И. О., Сушко Б. С. Экспериментальное исследование распределения кислорода в икринках вьюна	4	379
Березовский В. А., Горчаков В. Ю., Физиологическая роль поверхностно-активных веществ легкого	4	456
Березовский В. А., Горчаков В. Ю., Петунин З. И., Якут Л. И. Исследование влияния поверхностноактивных веществ легкого на массоперенос кислорода	4	371
Берташ В. И., Баев В. И., Зозулякова С. В. Эпифиз крыс при сочетанном воздействии гипоксии, гиперкапнии и охлаждения	3	251
Бобкова Л. П., Негрей Л. Н. Функциональная активность лимфоцитов у больных бронхиальной астмой при различных схемах глюкокортикоидной терапии		
Богач П. Г., А. М. Сердюк «Взаимодействие организма с электромагнитными полями как с фактором окружающей среды»	3	543
Богомолец В. И. Влияние снижения парциального давления кислорода на электрофизиологические свойства нейронов виноградной улитки	5	543
Болтоновос В. С., Ткаченко Б. И. О механизмах разнонаправленных изменений сопротивления и емкости сосудов задней конечности при уменьшении объема циркулирующей крови	4	419

- Бражников А. Н., Сливко Э. И., Щербина В. Д. Гиперполяризация эпителиальных клеток тонкого кишечника лягушки, вызванная действием секретина и пентагастрина 2 208
- Бурчинская Л. Ф. О группах пирамидных нейронов в поле 5 теменной ассоциативной области коры мозга кошки 5 518
- Бурый В. А. Операционный усилитель с высоковольтным выходом 2 215
- Бутенко Г. М., Андрианова Л. Ф., Ехнева Т. Л. Экспериментальные подходы к восстановлению сниженного при старении иммунного ответа 6 640
- Ванюрихина Л. Т., Валуева Т. К., Жигайло Т. Л., Нуриджанова А. А., Преображенский Н. Н. Влияние препаратов из тимуса — типопозтина, тимозина и ЛСВ на нервно-мышечную передачу 6 754
- Варданян И. К., Голубева Н. Н., Сеславина Л. С., Ситковский М. В. К вопросу о взаимодействии норадреналина и альфа-адреноблокаторов с лимфоидными клетками 6 627
- Василенко Д. А. T. D. M. Roberts Neurophysiology of Postural Mechanisms 2-nd edition. London, Betterworths, 1978 2 217
- Векслер И. Г., Рябуха В. Н., Ананенко В. П. Радиометрическое определение функционального состояния клеток печени при применении некоторых иммуностимуляторов в эксперименте 6 710
- Винницкий В. Б., Шевченко И. Н., Хмара В. А. Радиоавтографическое исследование синтеза ДНК в клетках лимфатических органов крыс с ДМБА-индуцированным канцерогенезом при электростимуляции заднего гипоталамуса 6 724
- Галенко Т. И. Развитие гиперчувствительности замедленного типа на введение вакцины БЦЖ в условиях различного функционального состояния печени 6 744
- Ганиткевич Я. В., Хролинская Р. Е. Влияние некоторых поверхностноактивных веществ на транспорт воды стенкой мочевого пузыря лягушки 3 280
- Гаркуша Л. Н. Идентификация характеристик липидного обмена при экспериментальном инфаркте миокарда 3 242
- Горбань Е. Н. Возрастные особенности влияния тиротропного гормона на мембранный потенциал клеток щитовидной железы 4 395
- Гуляр С. А., Моисеенко Е. В., Сирота С. С., Гриневиц В. А., Скудин В. К. Влияние пребывания человека в азотно-кислородной среде под давлением 5—125 кгс/см² на некоторые показатели высшей нервной деятельности 5 576
- Гуревич М. И., Соловьев А. И., Доломан Л. Б. Возможности и перспективы метода тетраполярной трансторакальной импедансной реоплетизмографии для неинвазивного исследования гемо- и кардиодинамика 4 465
- Гюлинг Э. В., Дюговская Л. А. Формы взаимодействия лимфоидных и тучных клеток 6 735
- Дегтярь В. Н. Влияние энергии СВЧ поля на напряжение кислорода и температуру в мышечной ткани животных, предварительно адаптированных к гипоксии 4 448
- Донцова З. С., Шквирская Л. А. Об изменении постсинаптического прямого торможения спинальных рефлексов после удаления передней доли мозжечка 5 497
- Дранник Г. Н., Мигаль Л. А., Петрунь Н. М., Белицкая Г. А. Реакция отторжения аллотрансплантата почки и взаимосвязь иммунологических и биохимических показателей в посттрансплантационном периоде 6 693
- Дроздович И. И., Буданцев А. Ю. Влияние адреналэктомии на содержание катехоламинов в срединном возвышении морских свинок 3 255
- Дружина Н. А., Чеботарев Е. Е., Ковтун Г. В. Влияние плазмы крови на индуцированную хемилюминесценцию гемоглобина 2 212
- Дударев В. П., Стародуб Н. Ф. О влиянии гипо- и гипероксии на фракционный состав гемоглобина у крыс 4 413
- Евдокимов И. Р., Фролькис И. В. Влияние повышения осмолярности внеклеточной среды на реакции сосудистых гладких мышц, вызванные ацетилхолином 5 550
- Ена Л. М. Некоторые особенности развития гипоксии при артериальной гипертензии в старости 4 343
- Ершова Л. К., Руднев М. И. Изменения биоэлектрической активности некоторых структур головного мозга кроликов под воздействием микроволн 2 132
- Есипенко Б. Е., Жалило Л. И., Костромина А. П., Нацик В. И., Ясевич А. П. Минеральная вода «Нафтуса» в процессе хранения 3 261
- Ефанова С. Г., Коропова Г. Е., Шугуров О. А. О влиянии стимуляции соматических афферентов на потенциалы дорсальной поверхности, вызванные раздражением чревного нерва 5 502
- Ехнева Т. Л. Иммунологическая память у животных разного возраста 6 634
- Иванюра И. А., Жилина Г. Е., Олейник Б. Ф., Судаков А. И. Функциональные

- изменения сердечно-сосудистой системы рабочих-станочников при физическом и нервно-напряженном труде 1 53
- Ильчевич Н. В., Зеленская Т. М., Нищименко О. В. Действие иммуноглобулинов класса G и M, выделенных из тестикулярной антисыворотки, на семенники половозрелых крыс 6 676
- Казак Л. И. Влияние папаверина и дибазола на работу сердца и состояние гемодинамики в условиях блокады бета-адренорецепторов 4 453
- Калашников А. А. К вопросу о влиянии функциональной музыки на физиологические показатели и работоспособность при умственной работе 2 177
- Караулов А. В., Ликов В. Ф., Фраш В. Н. Реактивность клеток лимфоидной ткани мышей при иммунизации в H-2 системе в норме и при интоксикации бензолом 6 750
- Касаткина М. Г. Активность и изоферментный спектр щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс при частичной гепатэктомии 6 705
- Коврикова Н. П. Влияние введения суммарной ДНК на формирование трансплантационного иммунитета у кроликов 6 741
- Кодола Н. А., Хомутовский О. А., Павлик С. А., Центило Г. Д. Ультраструктура слизистой оболочки десны при дистрофически-воспалительной форме пародонтоза 1 88
- Комиссаренко В. П., Кравченко В. И. Поглощение и рецепция глюкокортикоидов нервной и гипофизарной тканями и их физиологическое значение 3 297
- Кононенко В. С. О межполушарных соотношениях моноаминоксидазной активности и содержания норадреналина в корковых центрах кожного и двигательного анализаторов мозга человека 5 529
- Коптюх В. В., Гетьман Н. И. Игла для введения остеклованного платинового электрода в биологические объекты 1 98
- Копылова Г. В. Возрастные ультраструктурные изменения интимы венечных артерий 1 76
- Королева А. Е. Влияние разрушения ядер миндалевидного комплекса на кратковременную память у собак 2 115
- Кримкевич Е. И., Футерман Н. А., Персидский Ю. В. Суточный ритм электролитуреза у здоровых людей 3 270
- Крыжановская Л. А. Характеристика подвижности основных нервных процессов и работоспособности корковых клеток головного мозга у депрессивных больных 2 139
- Кузьменко Е. С., Ласкавая А. И., Селиченко А. Г., Юрченко М. З. Некоторые показатели функций коры надпочечников и белковый состав крови при введении различных доз эстрадурина 4 425
- Лажин П. В. К методике изучения обмена воды в тонкой кишке собак 3 320
- Лебедь А. Н., Диденко В. П., Шумаков А. В. Прибор для регистрации электрического сопротивления кожи 1 95
- Лиманский Ю. П. О тригемино-моторных рефлексах 2 187
- Лисяный Н. И., Меньшова М. А. Влияние АЛС на иммунорегуляторные свойства клеток тимуса и лимфатических узлов интактных и sensibilizированных гетерозритроцитами мышей 6 669
- Лобунец К. А. Изменение некоторых показателей гемодинамики у собак после массивной кровопотери и переливания растворов модифицированного глобина 1 47
- Луханина Е. П., Литвинова А. И. Исследование некоторых поведенческих и электрофизиологических реакций после функционального включения стриатума и паллидума методом анодной поляризации 2 124
- Малюк В. И., Гройсман С. Д., Киреева Л. М. Влияние сукцината натрия на моторную и секреторную функции желудка 5 607
- Мантуло П. М., Макий Е. А., Сердюченко М. Я. Сегментарные рефлекторные реакции спинного мозга крыс после перерезки седалищного нерва и введения тироксина 5 492
- Медведь В. И. Влияние вазопрессина на электрическую активность клеток предсердия 3 247
- Мудрая И. С. Применение метода аутогемоперфузии через активированный уголь при исследовании нейрогуморальной регуляции регионарного сосудистого сопротивления конечности 4 438
- Назаренко А. И., Говоруха Т. Н. Влияние нормобарической гипероксии на тканевое дыхание мозга и печени белых крыс с различной устойчивостью к гипоксии 4 348
- Нацик В. И., Кузнецов В. В. Термостатируемая камера для исследования биологических объектов 3 323
- Никитин В. Н., Нестеренко Г. А. Возрастные особенности тканевой рецепции стероидных гормонов 3 306
- Олейников В. А. Эмоционально-волевые характеристики горнорабочих 2 182

- Осташков К. В. Современные проблемы гипотермии 5 585
- Пирогов В. А., Завьялов В. И., Бушмакина В. И. Энергетические изменения в почке в условиях ее нормального и ограниченного кровоснабжения . . . 3 275
- Пирогов В. А., Носов Т. А., Номировиц Л. И. Биоэлектрическая активность и структурные изменения почек в условиях первичной ишемии 5 558
- Пожаров В. П. К вопросу об оценке кислородных параметров крови легочных капилляров 4 390
- Пожаров В. П., Розова Е. В., Середенко М. М. Диффузионная способность и проницаемость легких для кислорода у собак разного возраста в норме и при острой гипоксической гипоксии 4 364
- Полинская В. И., Черкасский Л. П. Некоторые показатели обеспечения организма кислородом у молодых и старых кроликов в норме и при экспериментальном атеросклерозе 1 3
- Попович Л. Ф. Ранние гистохимические изменения в миокарде при цитотоксическом повреждении сердца 1 62
- Прудников В. М., Бахарев А. М. Изменение калорического эквивалента работы при утомлении изолированной скелетной мышцы 2 204
- Розова Е. В., Середенко М. М. О влиянии снижения плотности вдыхаемой газовой смеси на внешнее дыхание 4 445
- Ройтуб Б. А., Олешко Н. Н., Черкес В. А., Маньковский Н. Б., Вайншток А. Б., Лопозов О. А. Взаимодействие ДОФА с ацетилхолинэстеразой крови больных паркинсонизмом 3 239
- Романенко В. Д., Соломатина В. Д. Роль митохондрий железистых органов рыб в обмене внутриклеточного кальция 5 572
- Рушкевич Е. А. Рефлекс цели и реакция преодоления 2 192
- Савоськина Л. А., Майский В. А. Характеристика спинальных проекций дорсолатеральной покрышки моста 5 513
- Самбур М. Б., Кравчук Г. П. Влияние тимозина на способность прогретых тимцитов морской свинки к розеткообразованию 6 739
- Сахаров Ю. К. Изменения свертывания крови и фибринолиза при внутривенном введении экстракта околоушной слюнной железы 3 315
- Селезнева Т. Н., Каменец Л. Я., Гриневич Ю. А. Особенности формирования иммунных розеток клетками некоторых образований лимфоидной системы под влиянием тимозина у адреналэктомированных крыс в процессе развития химически индуцированного канцерогенеза молочных желез 6 730
- Сергиенко Н. Г., Прожого В. П. Характеристика условно-рефлекторного судорожного процесса лимбического происхождения в условиях подавления активности моноаминоксидазы 5 536
- Серков Ф. Н. И. М. Сеченов — основоположник отечественной физиологии . . 5 483
- Сизякина Л. П., Гульянц Э. С., Вилков Г. А. Гистофизиология субкомиссурального органа мозга и клубочковой зоны надпочечника при введении специфической антисыворотки 6 747
- Сиротина М. Ф. Морфо-функциональные изменения микроваскулярного русла при развитии надпочечников гипотонии 1 68
- Сливко Э. И., Чернышева С. В. Концентрация РНК в мотонейронах и глиальных клетках спинного мозга при продолжительной антидромной активации 2 165
- Соболев В. И. Катехоламины и химическая терморегуляция при акклимации к холоду 5 593
- Соколюк А. М. Устройства для синхронизации цифровой измерительной аппаратуры биологическими сигналами 1 93
- Солоненко И. Н. Степень ишемического повреждения сердечной мышцы при частичном ограничении венозного кровотока 1 35
- Стародуб Н. Ф., Артюх В. П., Дударев В. П., Рекун Г. М. Содержание фосфата в красных клетках крови крыс при действии гипо- и гипероксии 4 450
- Стремоусов Б. А., Редько Н. И. Изменения сердечного ритма и дыхания при поведенческих реакциях, вызванных электростимуляцией хвостатого ядра и гипоталамуса 1 9
- Строганова Н. П. Сократительная функция миокарда в условиях экспериментальной реноваскулярной гипертензии различной гемодинамической структуры 1 23
- Ткаченко Б. И., А. А. Мойбенко, М. М. Повжитков, Г. М. Бутенко «Цитотоксические повреждения сердца и кардиогенный шок» 4 472
- Томилец В. А., Донцов В. И., Захарова И. А. Аллергические реакции немедленного и замедленного типа к соединениям VIII группы в эксперименте 6 653
- Троицкая Н. А., Кобозев Г. В., Гончарова Е. И., Каминская Г. А. Некоторые формы адаптации в системе крови к экстремальным воздействиям . . . 3 227

- Ушеренко Л. С., Синицкий В. Н. Влияние углекислого лития на биоэлектрическую активность мозга, сосудисто-вегетативный тонус и обмен биогенных аминов у здоровых людей 2 147
- Ушеренко Л. С., Синицкий В. Н. Влияние углекислого лития на биоэлектрическую активность мозга, сосудисто-вегетативный тонус и обмен биогенных аминов у депрессивных больных 2 154
- Файзулин В. В. Возрастные особенности влияния ацетилхолина, норадреналина и изадрина на мембранный потенциал ацинарных клеток околоушной слюнной железы крыс *in vitro* 5 566
- Файтельберг-Бланк В. Р., Перевалов Г. М. Динамика импульсной активности нейронов заднего отдела гипоталамуса при воздействии микроволн 2 199
- Фатеева И. Н., Богданович В. С., Федорова З. П., Грузова Л. М. Изучение кислородтранспортной функции раствора гемоглобина, полученного из эритроцитов донорской крови 4 408
- Федорич В. Н., Дученко Г. К. Модификация устройства для перфузии целостного организма и изолированной печени крыс 3 319
- Федорова З. П., Гитис Е. И., Федоров В. И., Шмырева Т. И. Особенности сосудистой проницаемости, степени кровенаполнения и сорбционной способности тканей при острой кровопотере и внутривенном введении плазмозамещающих растворов 1 41
- Филиппов М. М. Гипоксия при физической нагрузке (Приэльбрусские беседы) 3 328
- Хинчиашвили Н. В. Влияние приема мепробамата на вестибуло-сенсорную и вестибуло-соматические реакции 5 507
- Хоменко Н. Р. К вопросу о нейротоксическом действии дилора 2 210
- Цыпкун А. Г. Влияние фенobarбитала на механизмы адаптации новорожденных кроликов к гипоксии 4 353
- Чернушенко Е. Ф., Чумак А. А. Влияние введения фитогемагглютина на иммунологическую реактивность морских свинок 6 684
- Чернышев В. П. Ответ лимфоцитов на фитомитогены в сопоставлении с аутоиммунными реакциями и состоянием сперматогенеза при уро(уретро)-генном экспериментальном простатите на собаках 3 286
- Шанько В. М. Некоторые свойства лейкоцитов периферической крови и костного мозга при действии термического раздражителя у кроликов в условиях недостаточности инсулинообразования 3 235
- Шевчук В. Г. Возрастные особенности рефлексов с сердца 1 16
- Шостаковская И. В., Клевец М. Ю., Рыбак И. М. Температурная зависимость экстружии амилазы 3 313
- Янций Р. И. Действие противосердечных антител на потенциал покоя и сопротивление мембраны миокардиальных клеток 4 402
- Ярославский В. А. Функциональная остаточная емкость легких у новорожденных детей в первую неделю жизни 4 359

РЕФЕРАТЫ

УДК 612.617.087.843

К вопросу о взаимодействии норадреналина и альфа-адреноблокаторов с лимфоидными клетками. Варданын И. К., Голубева Н. Н., Сеславина Л. С., Ситковский М. В., Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 627—633.

Исследовано действие норадреналина и альфа-адреноблокаторов на поверхностные мембраны лимфоцитов и реализацию трансмембранного сигнала на метаболическом и функциональном уровне иммунокомпетентной клетки. Показано, что однонаправленное ингибирующее действие этих препаратов на поверхностные мембраны лимфоцитов вызывает разнонаправленные изменения в метаболизме, что приводит к различным функциональным изменениям иммунокомпетентных клеток. Ил. 1. Табл. 3. Библиогр. 16.

УДК 612.67.017.12:612.112.94

Иммунологическая память у животных разного возраста. Ехнева Т. Л., Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 634—639.

При использовании модели адоптивного переноса изучали клетки памяти у мышей линии СВА. Обнаружено, что клетки селезенки от старых примированных доноров дают меньший вторичный ответ, чем от молодых. Общее количество клеток первичной иммунологической памяти (т. е. после первого введения антигена) на всю селезенку у старых животных, по-видимому, несколько снижено, хотя и приближается к наблюдаемому у молодых. Примирование доноров меньшей дозой антигена дает более выраженные возрастные различия во вторичном ответе в культуре *in vivo*. Максимум антителообразования в культуре *in vivo* наблюдается на седьмой день после переноса клеток, независимо от возраста доноров переносимых клеток. Ил. 1. Табл. 2. Библиогр. 24.

УДК 612.67.017.12:612.112.94

Экспериментальные подходы к восстановлению сниженного при старении иммунного ответа. Бутенко Г. М., Андрианова Л. Ф., Ехнева Т. Л., Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 640—644.

В эксперименте на мышах СВА различного возраста исследовали стимулирующее влияние тимозина (третья фракция), левамизола, полиаденилата калия, полного адьюванта Фрейнда (ПАФ) и примирования антигеном на первичный и вторичный иммунный ответ к эритроцитам барана (ЭБ) и РТПХ в системе: родительские клетки селезенки — полусингенный трехдневный реципиент. Наибольший стимулирующий эффект в обоих видах ответа давало примирование. Левамизол привел к выраженной стимуляции РТПХ и слабой — гуморального ответа. Полиаденилат калия слабо стимулировал ответ на ЭБ и был неэффективен в РТПХ. Тимозин и ПАФ не оказали положительного влияния на гуморальный иммунный ответ. Ил. 1. Табл. 4. Библиогр. 12.

УДК 546.9.576.8.097.2

Моделирование химических аллергенов, их избирательное и неспецифическое угнетение, иммунологическая толерантность, иммунологическая память Адо В. А. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 645—652.

Рассматриваются вопросы моделирования аллергических реакций к различным химическим аллергенам, которые авторы классифицируют как «сильные», «средние» и «слабые». Обсуждается возможность неспецифического ингибирования таких химических аллергенов иммунодепрессивными агентами различных классов — алкилирующими ингибиторами, антимабо-литами, антибиотиками-иммунодепрессантами, блокаторами клеточных энзимов, антагонистами фолиевой кислоты, новейшими гормональными препаратами, некоторыми альфа-глобулиновыми фракциями, конъюгатами и лигандами. Изучена возможность получения состояния типа иммунологической толерантности к низкомолекулярным химическим агентам. Впервые обсуждается вопрос о возможности избирательного неспецифического угнетения химических аллергенов некоторыми ингибиторными иммунодепрессантами, что имеет первостепенное значение как для теоретической иммунологии и аллергологии, так и для практической медицины. Ил. 4. Библиогр. 16.

УДК 546.9:576.8.097.2

Аллергические реакции немедленного и замедленного типов к солям металлов VIII группы в эксперименте. Томилец В. А., Донцов В. И., Захарова И. А. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 653—657.

С помощью методов внутрикожных проб с оценкой через 20 мин и 24 ч, реакции пассивной кожной анафилаксии и реакции торможения миграции лейкоцитов показано формирование аллергических реакций немедленного и замедленного типов на соли *Pt* и *Pd* в эксперименте. К соединениям исследованных металлов VIII групп наблюдаются перекрестные реакции. Табл. 3. Библиогр. 10.

УДК 616.056.3.001.6:616.24

Экспериментальное моделирование аллергического поражения легких. Бережная Н. М., Бордонос В. Г., Куюн Л. А., Яхимович Л. В. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 658—663.

Разработана экспериментальная модель аллергического поражения легких, полученная в результате многократного ингаляционного воздействия раствора овальбумина на предварительно сенсибилизированных морских свинок. Иммунологические и морфологические исследования показали, что наблюдаемые в легких изменения обусловлены аллергическими реакциями немедленного и замедленного типа, с преобладанием последнего. Ил. 2. Табл. 1. Библиогр. 14.

УДК 615.365.12:612—017.1

Получение и иммунологическое изучение эффективности антицитохромоксидазной сыворотки к лимфоидной ткани экспериментальных животных. Антоненко В. Т., Городецкая С. Ф., Пеньковская Н. П., Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 664—668.

Описано получение и иммунологическое изучение эффективности антицитохромоксидазной сыворотки, полученной к цитохромоксидазе из лимфоидной ткани экспериментальных животных. Цитохромоксидаза, выделенная по методу К. Окунуки, вызывает выраженный иммунный ответ у собак и кроликов с синтезом преимущественно преципитирующих антител. Полученные антитела специфичны к цитохромоксидазе лимфоидных органов и обладают относительной специфичностью к цитохромоксидазе сердечной и скелетной мышц. Выявленная в опытах пролонгация кожных аллотрансплантатов позволяет использовать полученные антицитохромоксидазные сыворотки наряду с другими биологически активными веществами в качестве иммунодепрессивного средства для подавления трансплантационного иммунитета. Табл. 2. Библиогр. 22.

УДК 612.017

Влияние антилимфоцитарной сыворотки на иммунорегуляторные свойства клеток тимуса и лимфатических узлов интактных и sensibilizированных гетероэритроцитами мышей. Лисянский Н. И., Меньшова М. А. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 669—675.

Изучали влияние однократного введения 0,25 мл АЛС на иммунорегуляторные свойства клеток тимуса и лимфатических узлов интактных и sensibilizированных мышей. Установлено, что при адоптивном переносе клеток тимуса или лимфатических узлов интактным сингенным реципиентам, иммунодепрессивной активностью обладали только клетки лимфоузлов; введение донорам АЛС снимало депрессивное действие этих клеток на иммунный ответ реципиентам. У sensibilizированных эритроцитами барана доноров иммунодепрессивной активностью в большей мере обладали клетки тимуса, чем клетки лимфоузлов. Введение донорам АЛС одновременно с sensibilizировающей дозой эритроцитов не снимало, а, наоборот, усиливало депрессивное действие адоптивно переносимых клеток тимуса и лимфоузлов на иммунный ответ реципиентов. Полученные данные обсуждаются с позиции саморегуляции иммунного ответа T_1 - и T_2 -лимфоцитами, в зависимости от функционального состояния иммунореактивности и влияния на процессы регуляции АЛС. Ил. 1. Библиогр. 20.

УДК 612.017.6.15.361

Действие иммуноглобулинов класса G и M выделенных из тестикулярной антисыворотки на семенники половозрелых крыс. Ильчевич Н. В., Зеленская Т. М., Нищименко О. В. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 676—683.

На половозрелых крысах самцах в возрасте 5—7 мес изучали влияние больших доз IgG и IgM, выделенных из тестикулярной антисыворотки, специфичной к семенникам крыс. С помощью световой и электронной микроскопии, морфо- и цитометрических исследований выявлены изменения в семенниках при воздействии различных фракций. Показано, что большие дозы G фракции иммуноглобулинов оказывают более выраженный биологический эффект. Результаты исследований позволяют объяснить, за счет какой фракции иммуноглобулинов вызывается специфический эффект действия анти тестикулярной цитотоксической сыворотки, а также использовать большие дозы IgG как инструмент воздействия на семенники для моделирования в эксперименте патологического процесса с целью изучения патогенеза часто встречающегося в клинической практике аутоиммунного орхита, что имеет важное теоретическое и практическое значение. Ил. 4. Библиогр. 18.

УДК 612.017.1:615.276

Влияние фитогемагглютинаина на иммунологическую реактивность морских свинок. Чернушенко Е. Ф., Чумак А. А. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 684—687.

Исследовано влияние многократного введения ФГА в дозах 1, 0,01 и 0,001 мг/кг на состояние центральных и периферических органов иммунитета здоровых морских свинок. Авторы приходят к выводу о том, что ФГА оказывает воздействие на иммунную систему морских свинок, главным образом на ее тимусзависимое звено. Степень этого влияния находится в прямой зависимости от дозы препарата. Табл. 2. Библиогр. 10.

УДК 616.248—085:612.017.1

Функциональная активность лимфоцитов у больных бронхиальной астмой при различных схемах глюкокортикоидной терапии. Бобкова Л. П., Негрей Л. Н. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 688—692.

При различных схемах применения глюкокортикоидов у 86 больных инфекционно-аллергической бронхиальной астмой преимущественно с тяжелым течением исследовано функциональное состояние *T*- и *B*-лимфоцитов по данным процентного и абсолютного количества *E*-РОК, РБТЛ под влиянием ФГА *in vitro*, и содержания *Ig A, G, M, E* — в сыворотке крови. Показано, что функция *T*-клеток при длительном применении глюкокортикоидов снижена. Между уровнем *IgE* и функцией *T*-лимфоцитов выявлена обратная связь. При альтернирующей схеме лечения создаются предпосылки для восстановления функции лимфоцитов в свободные от лечения дни. Функциональная активность лимфоцитов на фоне первичного применения глюкокортикоидов изменяется — за стадией снижения следует фаза некоторого усиления, при продолжении лечения наступает повторное снижение. Ил. 2. Табл. 2. Библиогр. 18.

УДК 616.61—089.843—092:612.017:576.8.097

Реакция отторжения аллотрансплантата почки и взаимосвязь иммунологических и биохимических показателей в посттрансплантационном периоде. Дранник Г. Н., Мигаль Л. А., Петрунь Н. М., Белицкая Г. А. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 693—698.

Изучали иммунологические и биохимические показатели в динамике посттрансплантационного периода у собак после аллотрансплантации почки в условиях предварительно индуцированного хронического гломерулонефрита. Показано, что тест ингибции миграции лейкоцитов, определение продуктов распада фибрин/фибриногена в моче, показатели активности трансаминазы, обеих форм глутаминазы I, а также глутаминазы II могут быть использованы наряду с другими показателями в качестве тестов для контроля за функциональным состоянием пересаженной почки. Патогенез отторжения аллогенной почки весьма сложен. Он состоит из основного (иммунного) вспомогательного (гемокоагуляционного) и сопутствующего (ферментные нарушения) звеньев. Табл. 1. Ил. 1. Библиогр. 20.

УДК 612.017.1:616.36—002

Содержание розеткообразующих клеток в тимусе и селезенке крыс при различном функциональном состоянии печени. Алексеева И. Н., Тимошенко Ю. Г. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 699—704.

Трехкратное введение крысам 0,25 мл/100 г CCl_4 , разведенного маслом (1:1), приводит к уменьшению в лимфоидных органах количества лимфоцитов образующих *E*-розетки с эритроцитами барана, увеличению числа клеток, образующих *EAC*-розетки с эритроцитами барана, уменьшению общего количества клеток в тимусе и селезенке. Нормализация функционального состояния печени путем применения малых доз гамма-глобулиновой фракции антигепатотоксической сыворотки после введения CCl_4 сопровождается увеличением количества клеток, образующих *E*-розетки с эритроцитами барана. Ил. 1. Табл. 1. Библиогр. 12.

УДК 612.603:577.15

Активность и изоферментный спектр щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс при частотной гепатэктомии. Касаткина М. Г. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 705—709.

Изучена общая активность и изоферментный спектр щелочной фосфатазы (ЩФ) сыворотки крови в процессе регенерации после частичной экстирпации печени у здоровых животных и при ее поражении. Установлено, что максимальное повышение активности ЩФ наступает на 2—3 сут эксперимента. В этот период в изоферментном спектре ЩФ появляется изофермент цитомембранного происхождения, не характерный для спектра здоровых животных. При частичной экстирпации печени, пораженной дезооксихолевой кислотой, задерживается нормализация активности ЩФ. Ил. 2. Библиогр. 18.

УДК 616—006—092.9:615.276.4:612.353.2

Радиометрическое определение функционального состояния клеток печени при применении некоторых иммуностимуляторов в эксперименте. Векслер И. Г., Рябуха В. Н., Ананенко В. П. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 710—714.

Проведено радиометрическое изучение функционального состояния гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных клеток печени кроликов с развившейся карциномой Брауна—Пирс при применении синтетического препарата тилорона и полисахарида дрожжевой природы зимозана. Установлено, что у животных с опухолью понижена функциональная активность гепатоцитов и ретикуло-эндотелиальных (купферовских) клеток печени по сравнению со здоровыми животными. Под влиянием тилорона и зимозана функциональная активность клеток печени частично восстанавливается. При этом нормализующее действие зимозана и тилорона на функциональное состояние печени кроликов с карциномой Брауна—Пирс выражено почти одинаково, однако процесс полувыведения бенгальской розы меченой ^{131}I происходит быстрее под влиянием тилорона. Табл. 1. Библиогр. 21.

УДК 537.533.35:615.365.631

Электронномикроскопическое и цитохимическое изучение первичной реакции лизосом и комплекса Гольджи на действие малых доз специфических антител. Барченко Л. И. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 715—723;

Изучены изменения лизосом и комплекса Гольджи в первые часы и сутки после воздействия на клетки культур тканей семенника крысы малых (стимулирующих) доз специфических для данных клеток антител антитестискулярной цитотоксической сыворотки. Электронномикроскопическое исследование клеток через 1, 3, 6, 24, 48 и 72 ч после начала воздействия антител сочетали с цитохимическим изучением в те же сроки ферментов-маркеров лизосом и комплекса Гольджи—кислой фосфатазы, кислой рибонуклеазы и тиаминпирофосфатазы. Показано, что в первые часы и сутки после воздействия стимулирующих доз специфических антител наблюдается значительная активация лизосомного аппарата клетки и комплекса Гольджи связанная, видимо, вначале с инактивацией проникшего в клетку чужеродного материала (антитела) и выравниванием гомеостаза клеток нарушенного в результате этого воздействия, а в дальнейшем с активацией жизнедеятельности клеток. Ил. 4. Библиогр. 22.

УДК 616—006—092.9:611.814.1

Радиоавтографическое исследование синтеза ДНК в клетках лимфатических органов крыс с ДМБА-индуцированным канцерогенезом при электростимуляции заднего гипоталамуса. Винницкий В. Б., Шевченко И. Н., Хмара В. А. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 724—729.

С помощью радиоавтографического метода в опытах на крысах линии Вистар с ДМБА-индуцированным канцерогенезом установлено, что электростимуляция области задних гипоталамических ядер, проводимая в предопухолевый период, вызывает существенное повышение синтеза ДНК в ядрах лимфоцитов и пролиферативной активности этих клеток в селезенке и лимфатических узлах. Такие изменения в лимфоидных органах могут обуславливать торможение ДМБА-индуцированного канцерогенеза, наблюдаемое при электростимуляции заднего отдела гипоталамуса. Ил. 2. Табл. 1. Библиогр. 12.

УДК 612—017.1—06:618.19—006—02—092.9

Особенности формирования иммунных розеток клетками некоторых образований лимфоидной системы под влиянием тимозина. Селезнева Т. Н., Каменец Л. Я., Гриневич Ю. А. Физиологический журнал, т. XXV, № 6, с. 730—734.

Исследовали влияние тимозина (III фракция) и адреналэктомии на количество иммунных розеткообразующих клеток (РОК) к эритроцитам барана в тимусе, селезенке и лимфатических узлах крыс в процессе индуцированного ДМБА рака молочных желез. Показано, что на ранних этапах канцерогенеза количество иммунных РОК в тимусе, селезенке и лимфатических узлах уменьшается. Адреналэктомия, проведенная после введения ДМБА, способствует повышению содержания иммунных РОК в лимфоидных органах крыс. Введение тимозина стимулирует накопление иммунных РОК в лимфоидных органах крыс в процессе химически индуцированного канцерогенеза. Действие тимозина усиливается на фоне адреналэктомии. Табл. 1. Библиогр. 13.

УДК 576.5:612.017.3

Формы взаимодействия лимфоидных и тучных клеток. Гюллинг Э. В., Дюговская Л. А. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 735—738.

Рассматриваются современные данные о роли тучных клеток и их медиаторов в регуляции иммунного ответа. Анализируются свойства лейкоцитов, несущих рецепторы к гистамину, биологический эффект гистамина и участие цАМФ в модуляции им функций иммунокомпетентных клеток. Приведены данные о возможности непосредственного контакта тучных клеток и лимфоцитов, проявляющегося в образовании масто-лимфоцитарных розеток (МЛР). Библиогр. 24.

УДК 615.361.438:612.017.1:612.112.94

Влияние тимозина на способность прогретых тимоцитов морской свинки к розеткообразованию. Самбур М. Б., Кравчук Г. П. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 739—341.

Изучено влияние тимозина на способность тимоцитов морской свинки, прогретых при 45° С, образовывать розетки с эритроцитами кролика. Показано, что наиболее эффективно тимозин увеличивает число розеткообразующих клеток при 37° С. Выявлена прямая зависимость между дозой препарата, временем его действия и увеличением количества розеткообразующих тимоцитов. Установлено, что ингибитор гликолиза моноиодацетат угнетает процесс синтеза рецепторных образований, осуществляющийся при 37° С. Ил. 3. Библиогр. 10.

УДК 612.017.1:615.363.018

Влияние суммарной ДНК на формирование трансплантационного иммунитета у кроликов. Коврикова Н. П. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 741—744.

В опытах на кроликах изучали иммунологическую реактивность в условиях аллогенной пересадки кожи на фоне внутрибрюшинного введения ДНК, выделенной из интактных лимфатических узлов. Реципиентов обследовали в динамике на 3, 7, 14, 21 дни после трансплантации. В периферической крови определяли содержание гемолизинообразующих клеток по Конохему и розеткообразующих клеток по Хаскеллу. Установлено, что в условиях предварительного двухобразового введения 100 мг/кг ДНК удлиняется продолжительность жизни кожного аллотрансплантата по сравнению с контролем. При этом обнаружено более выраженное изменение показателей гуморальных реакций иммунитета по сравнению с клеточными. Ил. 2. Библиогр. 14.

УДК 612.017.1:616.36—002

Развитие гиперчувствительности замедленного типа на введение вакцины БЦЖ в условиях различного функционального состояния печени. Галенко Т. И. Физиологический журнал 1979, т. XXV, № 6, с. 744—747.

После применения различных повреждающих печень агентов наблюдается разная степень развития гиперчувствительности замедленного типа. Малые дозы антигепатоцитотоксического гамма-глобулина, примененные на фоне поражения печени четыреххлористым углеродом, оказывают стимулирующее влияние на развитие гиперчувствительности замедленного типа после введения вакцины БЦЖ. Табл. 2. Библиогр. 11.

УДК 616.097:616.091.8.591.147.5+612.45.451

Гистофизиология субкомиссурального органа мозга и клубочковой зоны надпочечника при введении специфической антисыворотки. Сизякина Л. П., Гульянц Э. С., Вилков Г. А. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 747—750.

Белым крысам вводили иммунный гамма-глобулин, содержащий анти-тела против субкомиссурального органа мозга (СКО), полученный посредством осаждения каприловой кислотой из сыворотки собак, иммунизированных бычьим мозгом с полным стимулятором Фрейнда, и «нормальный» гамма-глобулин, изготовленный из сыворотки здоровых собак. Изучали гистофизиологические и морфологические показатели клубочковой зоны коры надпочечников (КЗН) и СКО, результаты гистоэнзиматических реакций оценивали количественно. Антисыворотка, полученная к СКО мозга, вызывает подавление морфо-функциональной активности СКО и КЗН. Высказывается предположение о синергизме СКО и КЗН в сложной системе межгормональных отношений. Ил. 1. Табл. 2. Библиогр. 8.

УДК 611.41/42:612.111.3

Реактивность клеток лимфоидной ткани мышей при иммунизации в Н-2 системе в норме и при интоксикации бензолом. Караулов А. В., Ликов В. Ф., Фраш В. Н. Физиологический журнал 1979, т. XXV, № 6, с. 750—753.

Изучали реактивность клеток селезенки и лимфоузлов мышей в смешанных культурах лимфоцитов (СКЛ) в норме и при бензольной интоксикации в условиях иммунизации в Н-2 системе. Показана гипореактивность клеток отдельных лимфоидных органов в СКЛ, взятых от «иммунных» и «бензольных» животных. Иммунизация аллогенной опухолью МХ-11 приводит к генерации клеток-супрессоров макрофагальной природы, локализующихся в лимфоузлах, тогда как иммунизация аллогенной селезенкой сопровождается генерацией Т-супрессоров. Интоксикация бензолом потенцирует индукцию супрессоров макрофагальной природы и ослабляет индукцию Т-супрессоров. Табл. 3. Библиогр. 15.

УДК 612.438.018.2:(612.813)

Влияние препаратов из тимуса — тимопоэтина, тимозина и ЛСВ на нервно-мышечную передачу. Ванюрихина Л. Т., Валуева Т. К., Жигайло Т. Л., Нуриджанова А. А., Преображенский Н. Н. Физиологический журнал, 1979, т. XXV, № 6, с. 754—756.

Представлены сравнительные исследования влияния трех гормональных препаратов из тимуса телят на нервно-мышечную передачу у мышей. Показано, что тимопоэтин снижает лабильность нервно-мышечного аппарата; тимозин облегчает синаптическую передачу. ЛСВ существенных изменений в нервно-мышечной передаче не вызывает. Ил. 4. Библиогр. 10.

СОДЕРЖАНИЕ

Варданян И. К., Голубева Н. Н., Сеславина Л. С., Ситковский М. В. К вопросу о взаимодействии норадреналина и альфа-адреноблокаторов с лимфоидными клетками	627
Ехнева Т. Л. Иммунологическая память у животных разного возраста	634
Бутенко Г. М., Андрианова Л. Ф., Ехнева Т. Л. Экспериментальные подходы к восстановлению сниженного при старении иммунного ответа	640
Адо В. А. Моделирование химических аллергенов, их избирательное и неспецифическое угнетение, иммунологическая толерантность, иммунологическая память	645
Томилец В. А., Донцов В. И., Захарова И. А. Аллергические реакции немедленного и замедленного типа к соединениям металлов VIII группы в эксперименте	653
Бережная Н. М., Бордонос В. Г., Куюн Л. А., Яхимович Л. В. Экспериментальное моделирование аллергического поражения легких	658
Антоненко В. Т., Городецкая С. Ф., Пеньковская Н. П. Получение и иммунологическое изучение эффективности антицитохромоксидазной сыворотки к лимфоидной ткани экспериментальных животных	664
Лисяний Н. И., Меньшова М. А. Влияние антилимфоцитарной сыворотки на иммунорегуляторные свойства клеток тимуса и лимфатических узлов интактных и сенсибилизированных гетерозрительными мышей	669
Ильевич Н. В., Зеленская Т. М., Ницименко О. В. Действие иммуноглобулинов класса G и M выделенных из тестикулярной антисыворотки, на семенники половозрелых крыс	676
Чернушенко Е. Ф., Чулак А. А. Влияние фитогемагглютина на иммунологическую реактивность морских свинок	684
Бобкова Л. П., Негрей Л. Н. Функциональная активность лимфоцитов у больных бронхиальной астмой при различных схемах глюкокортикоидной терапии	688
Дранник Г. Н., Мигаль Л. А., Петрунь Н. М., Белицкая Г. А. Реакция отторжения аллотрансплантата почки и взаимосвязь иммунологических и биохимических показателей в посттрансплантационном периоде	693
Алексеева И. Н., Тимошенко Ю. Г. Содержание розеткообразующих клеток в селезенке и тимусе крыс при различном функциональном состоянии печени	699
Касаткина М. Г. Активность и изоферментный спектр щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс при частичной гепатэктомии	705
Векслер И. Г., Рябуха В. Н., Ананенко В. П. Радиометрическое определение функционального состояния клеток печени при применении некоторых иммуностимуляторов в эксперименте	710
Барченко Л. И. Электронномикроскопическое и цитохимическое изучение первичной реакции лизосом и комплекса Гольджи на действие малых доз специфических антител	715
Винницкий В. Б., Шевченко И. Н., Хмара В. А. Радиоавтографическое исследование синтеза ДНК в клетках лимфатических органов крыс с ДМБА-индуцированным канцерогенезом при электростимуляции заднего гипоталамуса	724
Селезнева Т. Н., Каменец Л. Я., Гриневич Ю. А. Особенности формирования иммунных розеток клетками некоторых образований лимфоидной системы под влиянием тимозина	730

Обзоры

Гюллинг Э. В., Дюговская А. А. Формы взаимодействия лимфоидных и тучных клеток	735
--	-----

Краткие сообщения

Самбур М. Б., Кравчук Г. П. Влияние тимозина на способность тимоцитов морской свинки к розеткообразованию	739
Коврикова Н. П. Влияние суммарной ДНК на формирование трансплантационного иммунитета у кроликов	741
Галенко Т. И. Развитие гиперчувствительности замедленного типа на введение вакцины БЦЖ в условиях различного функционального состояния печени	
Сизякина Л. П., Гулянец Э. С., Вилков Г. А. Гистофизиология субкомиссурального органа мозга и клубочковой зоны надпочечника при введении специфической антисыворотки	
Караулов А. В., Ликов В. Ф., Фраш В. Н. Реактивность клеток лимфоидной мышей при иммунизации в H-2 системе в норме и при интоксикации	
Ванюрихина Л. Т., Валуева Т. К., Жигайло Т. Л., Нуриджанов С. А., Мухоморова Л. Н. Влияние препаратов из тимуса—тимопоэтина на нервно-мышечную передачу	

90 коп.

74523

«НАУКОВА ДУМКА»

л с
логи

Пред
ных препар.
Показано, что
рата; тимозин о
менений в нервно-

В, № 6, 625—768