

4. Петров Р. В., Ковальчук Л. В., Цайтлер Б. В. и др. Рецепторы регуляторных лимфоцитов человека.— В кн.: Рецепторы лимфоцитов и клиническая иммунология: Тез. докл. М., 1980, с. 5—8.
5. Aas K. Clinical and experimental aspects of standartization and purification of allergens.— Int. Archs Allergy Appl. Immunol., 1975, 49, N 1, p. 44—54.
6. 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.
7. Papermaster V., Yoshida T., Cohen S. Desensitization. II. Passive transfer of desensitized state by serum from desensitized animals.— Cell. Immunol., 1978, 35, p. 378—391.
8. Peterson L. B., Braley J. F., Calvanico N. J., Moore V. L. An animal model of hypersensitivity pneumonitis in rabbits.— Amer. Rev. Resp. Dis., 1979, 119, p. 991—999.
9. Reisman R. E., Wypych J. I., Arbesman C. E. Relationship of immunotherapy, seasonal pollen exposure and clinical response to serum concentrations of total IgE and ragweed specific IgE.— Int. Archs Allergy Appl. Immunol., 1975, 48, N 6, p. 721—730.
10. Robinson J. A., Letratanakul Y. Simultaneous method for detection and quantitation of T- and B-lymphocytes.— J. Immunol. Meth., 1975, 8, N 1, p. 53—60.
11. Stadecker M. J., Bishop G., Mortis M. M. Rosette formation by guinea pig thymocytes and thymus derived lymphocytes with rabbit red blood cells.— J. Immunol., 1973, 3, N 6, p. 1834—1837.
12. Sonozaki M., Papermaster V., Yoshida T., Cohen S. Desensitization: effects on cutaneous and peritoneal manifestations of delayed hypersensitivity in relation to lymphokine production.— J. Immunol., 1975, 115, N 6, p. 1657—1661.
13. Steensgaard J., Johanson A. S. Biochemical aspects of immune complexes formation and immune complex diseases.— Allergy, 1980, 35, p. 457—472.
14. Swineford O. J. Allergy versus clinical immunology: A critical analysis (part two).— Allergy, 1974, 33, N 5, p. 267—275.

Киевский медицинский институт;
Институт проблем онкологии АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
13.IV 1981 г.

УДК 615.365.12:612—017.1

В. Т. Антоненко, С. Ф. Городецкая

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ЛИМФОУЗЛОВ В УСЛОВИЯХ ИММУНОСУПРЕССИИ АНТИЦИТОХРОМОКСИДАЗНОЙ СЫВОРОТКОЙ ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ КОЖИ

Изучение клеточного иммунитета, изыскание новых иммуносупрессивных препаратов, направленных на управление иммунологическими реакциями трансплантационного иммунитета, представляет большой интерес для дальнейшего развития теоретической и практической иммунологии.

Активация лимфоцитов под влиянием специфических и неспецифических митогенов (ФГА) широко используется многими исследователями для оценки *in vitro* клеточного иммунитета как в клинике [6, 7, 9, 13, 14], так и в эксперименте [1, 2, 3, 10, 17]. Угнетение клеточного иммунитета при иммуносупрессии с помощью АЛС довольно широко освещено в литературе [3, 11, 12, 16]. Большинство авторов указывают на снижение чувствительности лимфоцитов периферической крови и лимфоидных органов животных к стимуляции ФГА. Учитывая относительную специфичность противоорганных цитосывороток, некоторые авторы для получения специфических сывороток в качестве антигена используют различные ферменты, в том числе ключевой фермент энергетического обмена — цитохромоксидазу [4, 5, 19, 21]. В предыдущих работах [4, 5] было показано, что антицитохромоксидазные сыворотки (АЦХОС) обладают выраженным ингибирующим эффектом на активность цитохромоксидазы и энергетический обмен в условиях *in vivo*. В литературе нет работ по изучению влияния АЦХОС на реакции тканевой несовместимости и механизмы их влияния на функциональную активность Т-лимфоцитов, играющих в формировании трансплантационного иммунитета ведущую роль. Трансформация и пролиферация лимфоцитов с ФГА может служить моделью

для изучения функциональной активности Т-клеток и их иммунологической компетентности. Мы изучали функциональную активность лимфоцитов периферической крови и лимфоузлов в РБТ в условиях иммуносупрессии АЦХОС при аллотрансплантации кожи.

Методика исследований

Опыты проведены на 40 кроликах породы шиншилла массой 2—2,5 кг. На модели аллотрансплантации кожи в условиях иммуносупрессии АЦХОС изучали функциональную активность Т-лимфоцитов в РБТ, для чего использовали модификацию известного метода Бака [7]. Цитохромоксидазу выделяли из лимфоидных органов кроликов по методу Окунуки [5]. Активность фермента определяли по методу Штрауса; белок — по Лоури [15]. Иммунизацию собак проводили по ранее описанному методу [5]. Полученные антитела определяли по методу Уанье [8] и Оухтерлони [21]. Аллотрансплантацию кожи производили у кроликов в области уха. 2 мл/кг АЦХОС вводили трехкратно внутривенно до пересадки, в день пересадки и через сутки после пересадки. В работе прослежена динамика реактивных способностей лимфоцитов периферической крови и лимфоузлов к ответу на ФГА. Уровень РБТ учитывали морфологически. Процент бластов определяли, подсчитывая неизмененные лимфоциты, лимфоциты с признаками трансформации и бласты.

Результаты исследований и их обсуждение

Из лимфоидных органов кроликов получено около 40 мг фермента ЦХО с активностью 3—4, 6 $\frac{\text{ин. ед.}}{\text{мг. белка}}$. Фермент обладал высокой антигенной активностью. При иммунизации собак получены активные сыворотки, содержащие высокие титры преципитирующих антител (см. таблицу).

Титры преципитирующих антител

Методы исследования	Серия АЦХОС	
	1	2
Уанье	1:1280	1:1280
Оухтерлони	1:8	1:16
Цитотокстест	1:128	1:256

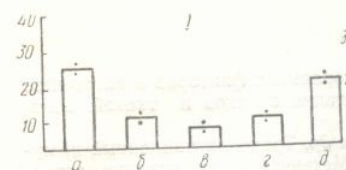
Результаты исследований представлены на рисунке, I. Обнаружено достоверное снижение числа бластов при введении АЦХОС. Если до введения АЦХОС на ФГА было зарегистрировано $24 \pm 1,2\%$ бластов, то после трехкратного введения АЦХОС на третьи сутки количество бластов снизилось до $8 \pm 1,3\%$. Подавление функциональной активности лимфоцитов оказалось выраженным, и на седьмые сутки после введения АЦХОС количество бластов снизилось до $4 \pm 0,9\%$. К 14 суткам отмечено увеличение количества бластов на ФГА до $7,5 \pm 1,3\%$, с увеличением пролиферативной активности лимфоцитов до $19,3 \pm 1,4\%$ к 21 суткам после иммуносупрессии АЦХОС. Введение контрольным экспериментальным животным нормальной собачьей сыворотки (НСС) в тех же количествах не оказывало выраженного влияния на трансформацию лимфоцитов. В процессе трансформации малые и средние лимфоциты превращались в большие бластные клетки. В мазках уменьшалось количество малых лимфоцитов, появлялось много лимфоцитов, имеющих диаметр более 12 мкм, несколько ядрышек и высокое ядерно-цитоплазматическое отношение; много бластов, с диаметром более 20—30 мкм. Анализ I серии опытов показал статистически достоверное снижение функциональной активности лимфоцитов на третьи и седьмые сутки с восстановлением процесса бластообразования на ФГА к 21 суткам в условия иммуносупрессии АЦХОС (см. рисунок, I).

Во II серии изучали активность лимфоцитов периферической крови в РБТ на фоне аллотрансплантации. Данные экспериментов приведены на рисунке, II.

Аллотрансплантация кожи (серия III) и введение АЦХОС приводило к незначительным снижениям бластообразования (см. рисунок, III) и выраженному снижению функциональной активности лимфоцитов, проявившейся в ответе на ФГА. Угнетение функциональной активности лимфоцитов при аллотрансплантации отмечено на третьи

и четвертые сутки при супрессии функциональную активность лимфоцитов.

В IV и V сериях изучали функциональную активность лимфоцитов кроликов при аллотрансплантации после пересадки лоскута без введения статистически достоверно увеличилось количество бластов при аллотрансплантации кожного



Влияние АЦХОС на функциональную активность (РБТ)

I — ЛПК, II — ЛПК+аллотрансплантация, III — ЛПК+аллотрансплантация+НСС. По вертикали — средние значения, а — исходные данные

бластов и переходных форм, и к ответу на ФГА. Аналогичные седьмые сутки после аллотрансплантации.

В VI и VII сериях исследовали влияние АЦХОС на фоне аллотрансплантации лимфоузлов. Данные, представленные на рисунке, III, показывают, что на функциональную активность лимфоцитов в ответе на ФГА были получены и при введении АЦХОС на третьи и седьмые сутки после аллотрансплантации.

VIII серия опытов была посвящена изучению активности лимфоцитов периферической крови кроликов при аллотрансплантации. В ответе на ФГА реакции проводили по числу бластов, как и ФГА, стимулировали, но на АЦХОС количество бластов снизилось до $4-6\%$. Однако степень стимуляции была незначительной, НСС—1—2%.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что функциональная активность лимфоцитов периферической крови при аллотрансплантации кожи характеризуется подавлением активности лимфоцитов, что проявляется в снижении количества бластов, образующихся в ответе на ФГА.

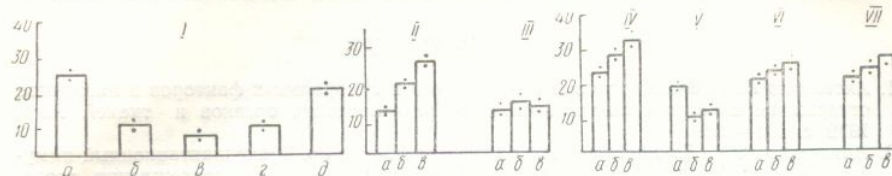
Помимо цитотоксического действия АЦХОС на лимфоциты, в ответе на ФГА, также частичная блокада антигенов, создание гипоксического состояния, торможение процессов пролиферации лимфоцитов, что приводит к снижению функциональной активности лимфоцитов.

Таким образом, антицито- и антипролиферативное действие АЦХОС на лимфоциты приводит к снижению функциональной активности лимфоцитов в ответе на ФГА.

1. Обнаружено достоверное снижение функциональной активности лимфоцитов в ответе на ФГА на третьи и седьмые сутки после аллотрансплантации.
2. АЦХОС обладает выраженным угнетающим действием на функциональную активность лимфоцитов, что проявляется в увеличении сроков отторжения трансплантата.

и четвертые сутки при супрессии АЦХОС. Введение НСС не оказало влияния на функциональную активность лимфоцитов.

В IV и V сериях изучали функциональную активность лимфоцитов лимфоузлов кроликов при аллотрансплантации в условиях супрессии АЦХОС. На третьи сутки после пересадки лоскута без введения АЦХОС количество бластов и переходных форм статистически достоверно увеличилось, продолжая нарастать и на седьмые сутки. После аллотрансплантации кожного лоскута и введения АЦХОС уменьшалось количество



Влияние АЦХОС на функциональную активность лимфоцитов периферической крови (ЛПК) и лимфоузлов (ЛЛУ).

I — ЛПК, II — ЛПК+аллотрансплантация, III — ЛПК+АЦХОС+аллотрансплантация, IV — ЛЛУ+аллотрансплантация, V — ЛЛУ+аллотрансплантация+АЦХОС, VI — ЛЛУ+НСС, VII — ЛЛУ+аллотрансплантация+НСС. По вертикали — бласты, в процентах. По горизонтали — дни после пересадки, а — исходные данные, б — третий, в — седьмой, г — 14-й, д — 21-й дни.

бластов и переходных форм, и также отмечалось снижение способности лимфоцитов к ответу на ФГА. Аналогичные изменения функциональной способности отмечены на седьмые сутки после аллотрансплантации и введения АЦХОС кроликам (см. рисунок).

В VI и VII сериях исследовали влияние трехкратного введения НСС и введения НСС на фоне аллотрансплантации кожи на функциональную активность лимфоцитов лимфоузлов. Данные, представленные на рисунке, показали, что введение НСС во все сроки исследования — третьи и седьмые сутки не оказало такого выраженного влияния на функциональную активность лимфоцитов, как введение АЦХОС. Аналогичные данные были получены и при введении НСС на фоне аллотрансплантации. Обобщенные результаты представлены на рисунке, IV—VII.

VIII серия опытов была посвящена возможности стимуляции лимфоцитов периферической крови кроликов антицитохромоксидазными антителами. К лимфоцитам периферической крови при культивировании *in vitro* добавляли не ФГА, а АЦХОС. Учет реакции проводили по числу трансформированных клеток через 72 ч инкубации. АЦХОС, как и ФГА, стимулировали пролиферацию лимфоцитов периферической крови, но на АЦХОС количество бластов было значительно меньше и составляло всего 4—6 %. Однако степень стимуляции в этих условиях была выше, чем при введении НСС—1—2 %.

Полученные данные позволяют предположить, что угнетение функциональной активности лимфоцитов периферической крови и лимфоузлов может быть связано с торможением аэробного окисления в митохондриях вследствие угнетения активности фермента цитохромоксидазы антицитохромоксидазными сыворотками.

Помимо цитотоксического действия АЦХОС, в результате которого лизируется часть пула функционально полноценных лимфоцитов (лимфопения [5]), происходит также частичная блокада антицитохромоксидазными антителами мембраны лимфоцитов, создание гипоксического состояния, затрудняющего проникновение митогена внутрь клетки, и нарушение процессов «узнавания» антигенов трансплантатов и, как следствие этого, торможение процессов аллосенсибилизации на сроки, обеспечивающие восстановление пула функционально полноценных лимфоцитов через 2—3 нед (см. рисунок).

Таким образом, антицитохромоксидазные антитела могут быть использованы для моделирования клеточной патологии, проявляющейся в изменении функциональной способности лимфоцитов к ответу на ФГА.

Выводы

1. Обнаружено достоверное снижение числа бластов лимфоцитов периферической крови на ФГА на третьи и седьмые сутки в условиях иммуносупрессии АЦХОС.
2. АЦХОС обладает выраженным иммуносупрессивным действием, проявившимся в увеличении сроков отторжения аллотрансплантатов кожи, в достоверном умень-

шении количества blastов в РБТ по сравнению с контрольной серией исследования и с введением НСС, а также снижении функциональной способности лимфоцитов периферической крови и лимфоузлов в РБТ.

3. В условиях иммуносупрессии АЦХОС прослеживается корреляция между нарушенным ранее уменьшением количества лимфоцитов в периферической крови, снижением функциональной активности Т-лимфоцитов и увеличением сроков приживления аллотрансплантатов у экспериментальных животных.

Список литературы

1. Антоненко В. Т. Взаимоотношение клеточного и гуморальных факторов в патогенезе отторжения аллотрансплантата.— В кн.: Трансплантация органов и тканей. Рига, 1972, с. 134—135.
2. Антоненко В. Т., Банникова Р. А., Коврикова Н. П. и др. Трансплантационный иммунитет и специфическая иммунодепрессия.— В кн.: Механизмы повреждения, резистентности, адаптации и компенсации, 1976, т. 2, с. 205—206.
3. Антоненко Л. И. Порівняльні вивчення впливу АЛС проти нормальних і сенсibilізованих лімфоцитів на виживання аллотрансплантатів шкіри щурів.— Фізіол. журн., 1974, 20, № 5, с. 550—556.
4. Антоненко В. Т., Пеньковская Н. П., Городецкая С. Ф. Влияние антицитохромоксидазной сыворотки на активность цитохромоксидазы в сердечной и скелетной мышцах собаки.— Патология, физиология и эксперим. терапия, 1979, № 3, с. 66—70.
5. Антоненко В. Т., Городецкая С. Ф., Пеньковская Н. П. Получение и иммунологическое изучение эффективности антицитохромоксидазной сыворотки к лимфоидной ткани экспериментальных животных.— Физиол. журн., 1979, 25, № 6, с. 664—668.
6. Говалло Г. И. Трансплантация тканей в клинике.— М.: Медицина, 1979.— 288 с.
7. Григорьева М. П., Копелян И. И. Разработка микрометода культивирования клеток крови человека.— Бюл. эксперим. биологии, 1972, 74, № 8, с. 119—122.
8. Клемпарская Н. И. Исследование аутоенсибилизации при лучевой болезни методом Уанье.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1961, 60, № 5, с. 77—81.
9. Когосова Л. С. Применение РБТ лимфоцитов для выявления аллергии замедленного типа у больных с приобретенным пороком сердца.— Пробл. туберкулеза, 1970, № 4, с. 75—78.
10. Линг Н. Р. Стимуляция лимфоцитов.— М.: Медицина, 1971.— 288 с.
11. Петров Р. Н. Клеточные основы трансплантационного иммунитета.— В кн.: Актуальные проблемы пересадки органов, М., 1974, с. 3—21.
12. Поберий И. А. Кинетика клеточных популяций лимфоидных органов в ответ на введение АЛС мышам с кожным аллотрансплантатом.— В кн.: Трансплантация органов и тканей, Рига, 1972, с. 138—140.
13. Bach F. H., Bach T. L. Mixed leukocyte cultures in transplantation immunology.— Transpl. Proc., 1971, N 3, p. 142—147.
14. Hamberg B., Wesenberg F., Harshog D. Lymphocyte multiplication in vitro induced by mitogens and antigens.— Scand. J. Immunol., 1978, 7, N 1, p. 9—13.
15. Lowry O. H., Rosenbraugh N. L., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, 193, N 1, p. 265—275.
16. Leveg R. H., Medawar P. B. Some experiments on the action of antilymphocyte serum.— Proc. Nat. Acad. Sci., 1966, 129, N 1, p. 164—177.
17. Knightstella C., Farrenit J. Comparing stimulation of lymphocytes in different samples.— J. Immunol. Meth., 1978, 22, N 1/2, p. 63—71.
18. Marchal G. Dactivation in vitro des lymphocytes: principaux aspects en immunologie et en biologie cellulaire.— Bull. Inst. Pasteur, 1978, 76, N 2, p. 107—132.
19. Mochan B. S., Lang R. W., Elliott W. B. Studies on a cytochrome oxidase antibody.— Biochim. et biophys. acta, 1970, 216, N 1236, p. 96—121.
20. Ouchterlony O. Antigen-antibody reactions in gels.— Acta pathol. microbiol., 1953, 32, N 2, p. 231—235.
21. Pater I. Cytochrom C oxidase.— Arch. Biochem. and Biophys., 1978, 188, N 1, p. 1—14.

Научно-исследовательская лаборатория
Киевского института усовершенствования врачей

Поступила в редакцию
18.VI 1980 г.

ПРОТИВОПЕЧЕНОЧНЫ

Киев:

Иммунным факторам придают важное значение в развитии ряда заболеваний и экспериментальных поражений печени. К ним относятся факторы иммунитета — иммунные клетки и гуморальные. Эти факторы могут воздействовать независимо друг от друга, но также их совместное, взаимное действие.

Рецензируемая работа посвящена анализу литературных данных и результатов собственных исследований автора роли противопеченочных антител в патологическом состоянии печени в нормальных условиях и в двух видах экспериментальной патологии: поражении четыреххлоридом и экзогенными желчными токсинами.

На основании полученных экспериментальных данных автор пытается ответить на вопрос о том, являются ли противопеченочные (в том числе и проточные) аутоантитела аггессорами или только свидетелями. Просы решаются с применением данных о противопеченочных антителах патогенотоксических сывороток и из них гамма-глобулиновой. Такая модель действия аутоантител справедливо замечает автор, не вопроса о причинах возникновения иммунных процессов, но показывая логическую и патогенетическую роль при их появлении в организме в печени.

В I главе монографии приводятся литературные данные о роли противопеченочных аутоантител в норме и при патологии. Подчеркивается, что для решения вопроса об участии аутоантител в патологическом процессе необходим анализ функциональных изменений в печени, фиксируемых в ней, а циркулирующими в крови.

Во II главе приводятся характеристики антигепатотоксических сывороток, полученных различными авторами, описаны методы повышения их органной активности.

III глава посвящена анализу данных исследований о роли противопеченочных аутоантител об изменении патологического состояния печени после введения больших (сублетальных) доз патогенотоксической сыворотки, с помощью фиксации значительного количества антител в печени. Приводятся данные о нарушении желчеотделения, секреторной, белковообразовательной функции печени, об изменении активности