

ISSN 0201-8489

Физиологический
журнал

Том XXVIII

1982

4

СОДЕРЖАНИЕ

Петров Р. В., Ковальчук Л. В., Ганковская Л. В., Сотникова Н. Ю., Соколова Е. В. Механизмы клеточной регуляции выработки фактора, угнетающего миграцию макрофагов в эксперименте	387
Гущин И. С., Зебрев А. И., Алешкин В. А. Действие агрегированного иммуноглобулина G на секрецию гистамина из тучных клеток крыс	395
✓ Ильевич Н. В., Янций Р. И. О механизме активирующего действия противосердечных антител на электрическую и сократительную активность миокардиальных клеток	401
✓ Ганджа И. М., Мякая И. П., Бобрик М. В. Показатели иммунитета при различных типах гиперлипопротеидемии	410
✓ Алексеева И. Н. Роль синтеза белка в изменении желчного под влиянием противопеченочных антител	417
Малышев В. А. Авторадиографическое изучение лимфоцитотропной активности низкомолекулярного гуморального фактора тимуса—ЛСВ	422
Соколова И. И., Абилов А. И., Ойвадис Р. Н., Таг Т. А. Мишени действия аутоантител к семенной плазме и живчикам после аутоиммунизации кроликов-самцов	429
Зеленская Т. М., Ильевич Н. В., Нищенко О. В. Иммуноглобулины тестикулярной антисыворотки и их действие на органы-эффекторы	434
Чумаков А. А., Чернушенко Е. Ф. Иммунотерапия экспериментального туберкулеза у морских свинок	442
Барченко Л. И. Ранняя реакция клеток-мишеней на действие малых доз специфических антител	448
Дранник Г. Н., Козут Г. И., Глухенькая Г. Т., Монтаг Т. С., Калинина Н. А., Литвищенко Е. И. Функциональная активность Т-лимфоцитов супрессоров и хелперов при аллотрансплантации почки в эксперименте	457
Чернышов В. П. Иммунологические изменения в организме при локальном пролонгированном криводействии	464

Обзоры

Кашкин К. П. Организация антигена и активация В-лимфоцитов	469
Комиссаренко С. В. Получение моноклональных антител и применение моноспецифических и моноклональных антител в иммунохимическом анализе	477
Бутенко Г. М., Мойбенко А. А., Шабловская О. В. Антигены сердца	485
Гюллинг Э. В., Дюговская Л. А. Современные подходы к проблеме коррекции гипер-IgE антителогенеза	491

Краткие сообщения

Чеботарев В. Ф., Ермакова Н. И., Антоненко А. В., Валуева Т. К. К вопросу о механизме действия биологически активных препаратов тимуса и селезенки на первичный и вторичный гуморальный иммунный ответ	496
Кунон Л. А., Бордонос В. Г., Бережная Н. М. Гипосенсибилизация при аллергическом поражении легких в эксперименте	498
Антоненко В. Т., Городецкая С. Ф. Функциональная активность лимфоцитов периферической крови и лимфоузлов в условиях иммуносупрессии антицитохромоксидазной сывороткой при аллотрансплантации кожи	501

Рецензии

Кулик Г. И., Алексеева И. Н. Противопеченочные антитела и функции печени	505
Богомолец О. А., Зеленская Т. М. Эндокринные взаимоотношения и тестикулярные антитела	506

ФИЗИС

КИЕВ

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

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Том XXVIII, № 4, 1982

ИЮЛЬ—АВГУСТ

*Научно-теоретический журнал
Выходит 1 раз в 2 месяца
Основан в 1955 г.*



КИЕВ

НАУКОВА ДУМКА

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Ф. Н. Серков (главный редактор)

В. А. Березовский, Н. В. Братусь, М. И. Гуревич, Б. Е. Есипенко, Н. В. Ильчевич,
Н. Н. Зайко, П. Г. Костюк, А. А. Мойбенко (зам. главного редактора), В. В. Фроль-
кис, В. А. Черкес, Э. А. Сорокина (ответственный секретарь)

Редакционный совет

П. В. Бирюкович	А. В. Квасницкий	Е. Н. Панасюк
Г. М. Бутенко	К. В. Кованов	В. С. Райцес
Ф. П. Ведяев	Б. П. Комиссаренко	П. И. Сябро
Н. Н. Горев	А. О. Навакатилян	Г. И. Федорович
З. С. Донцова	В. Н. Никитин	Г. А. Хасабов
В. Н. Казаков		А. И. Хомазюк

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

Редактор В. В. Войтенко

Художественный редактор Т. М. Немеровская

Технический редактор О. В. Дивуля

Корректоры Н. А. Струк, Н. А. Деревянко

Сдано в набор 28.04.82. Подп. в печ. 30.06.82. БФ 01190. Формат 70×108/16. Выс. печ. Усл. печ.
л. 11,2. Усл. кр.-отт. 11,7. Уч.-изд. л. 12,94. Тираж 915 экз. Заказ 2-270.

Издательство «Наукова думка», 252601 Киев, ГСП, Репина, 3.
Киевская книжная типография научной книги. 252004 Киев-4, Репина, 4.

© Издательство «Наукова думка», «Физиологический журнал», 1982

МЕХАНИЗМ ВЫРАБОТКИ ФА МАКРС

Проблема взаимодействия многих исследуемых иммунных реакций лимфоцитов: хелперы, супрессоры, тимические и другой.

Важным компонентом является взаимодействие. При этом лимфоциты выделяют субстанций, среди которых макрофагов *MIF* является гликопротеином и при определенных условиях что выработка *MIF* на процесс [10, 23]. Способность [8, 13]. Способность доминантному типу и кодируются сцеплены с главными другими — не сцеплены [9] кина различными лимфоцитами. Полная отмена *MIF* наблюдается [10] и в процессе роста *B.16* у мышей линии *C57B* регуляции выработки *MIF* протекания иммунных реакций иммунной системы практически природа клеток-регуляторов фокина как в условиях *in vivo*. В данной работе представлены данные на кафедре иммунологии активности лимфоцитов, в частности изучение: 1) выработки ответа на туберкулин; 2) лимфоидных тканей опухоленосителей в системе экспериментального управления ф

Метод

Эксперименты проводились на χ СВА)F₁, полученных из питомника «Вая». Для индукции иммунного ответа риброзином БЦЖ в дозе 500 мкг *MIF* определяли в прямом капиллярном тигене, вызывающего продукцию микробного экссудата, был использован ранее дозе 100 мкг/мл. Клетки селезенки фиксировали поликлональным стимулом

УДК 612.112.95.017.1—06:612.432

Р. В. Петров, Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская,
Н. Ю. Сотникова, Е. В. Соколова

МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ВЫРАБОТКИ ФАКТОРА, УГНЕТАЮЩЕГО МИГРАЦИЮ МАКРОФАГОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Проблема взаимодействия клеток в иммунном ответе привлекает внимание многих исследователей. В последнее десятилетие изучена регуляция иммунных реакций, осуществляемая различными субпопуляциями лимфоцитов: хелперами и усилителями [11, 17] с одной стороны, супрессорами тимического и костномозгового происхождения [12, 21] с другой.

Важным компонентом нормального проявления иммунного ответа является взаимодействие Т-лимфоцитов с макрофагальной клеткой. При этом лимфоциты выделяют целый ряд биологически активных субстанций, среди которых наиболее изучен фактор, угнетающий миграцию макрофагов *Migration Inhibition Factor (MIF)*. По природе *MIF* является гликопротеином [24], он вырабатывается Т-лимфоцитами и при определенных условиях В-клетками [6, 14, 18]. Показано, что выработка *MIF* на специфический антиген — тимус-зависимый процесс [10, 23]. Выработка этого медиатора контролируется генетически [8, 13]. Способность к высокой продукции *MIF* наследуется по доминантному типу и кодируется несколькими генами, одни из которых сцеплены с главным комплексом гистосовместимости у мышей, другие — не сцеплены [9]. Определена активность выработки лимфокина различными лимфоидными тканями нормального организма [5]. Полная отмена *MIF* наблюдается после тимэктомии взрослых мышей [10] и в процессе роста перевиваемой сингенной опухоли меланомы В.16 у мышей линии C57BL/6 [3]. В то же время, вопросы клеточной регуляции выработки *MIF* лимфоцитами в условиях физиологического протекания иммунных реакций и при нарушении функционирования иммунной системы практически не изучены. В частности, не известна природа клеток-регуляторов, механизм их действия на выработку лимфокина как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*.

В данной работе представлены результаты исследований, проводимых на кафедре иммунологии по изучению механизмов регуляции активности лимфоцитов, вырабатывающих *MIF*. Конкретно, проведено изучение: 1) выработки *MIF* и ее регуляции при развитии иммунного ответа на туберкулин; 2) регуляторной активности клеток различных лимфоидных тканей тимэктомированных животных и мышей-опухоленосителей в системе *in vitro* и *in vivo*; 3) возможности экспериментального управления функцией клеток-регуляторов.

Методика исследований

Эксперименты проводились на мышах линии C57BL/6 и гибридах (C57BL/6 × CBA)F₁, полученных из питомника чистопородных животных АМН СССР «Столбовая». Для индукции иммунного ответа на туберкулин мышей иммунизировали внутривенно БЦЖ в дозе 500 мкг на мышь в полном адьюванте Фрейнда. Выработку *MIF* определяли в прямом капиллярном тесте в модификации [15]. В качестве антигена, вызывающего продукцию медиатора сенсибилизированными клетками перитонеального экссудата, был использован сухой очищенный туберкулин в отработанной ранее дозе 100 мкг/мл. Клетки селезенки стимулировали для выработки *MIF* неспецифическим поликлональным стимулятором — фитогемагглютинином (ФГА) в дозе

2 мкг/мл. Количественным показателем служил процент угнетения миграции ПУМ, определяемый по формуле: $\text{ПУМ} = 100\% - \frac{\text{площадь миграции с антигеном}}{\text{площадь миграции без антигена}} \times 100\%$.

Тимэктомия проводилась по [22]. Контролем служили ложнопериоперированные животные. Через 3 сут после удаления тимуса мышей иммунизировали и на максимуме иммунного ответа (3 сут у мышей С57BL/6) [8] определяли *MIF* продукцию.

Мышам генотипа С57BL/6 перевивали подкожно 2×10^6 клеток меланомы В. 16. Опухоль получена из лаборатории опухолевых штаммов Онкологического научного центра АМН СССР.

В серии экспериментов по изучению природы регуляторов выработки *MIF* клетки различной локализации смешивали с клетками селезенки или перитонеального экссудата (продуцентами *MIF*) в соотношении 1:1. Прилипающую фракцию клеток получали по [18]. Для получения кортизолрезистентных лимфоцитов мышам за 2 сут до опыта вводили внутривенно гидрокортизон из расчета 25 мкг/кг. Обработку лимфоидных клеток антилимфоцитарной сывороткой в присутствии комплемента проводили по методу, описанному ранее [1].

В опытах использовали препарат Т-активин — активную фракцию тимуса (АФТ-6), полученную из тимуса телят [4].

Описание эксперимента по регуляции выработки *MIF* в системе *in vivo* изложено далее. Достоверность результатов определяли по критерию Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

Ранее была изучена динамика выработки *MIF* лимфоцитами мышей линии С57BL/6, иммунизированных БЦЖ [8]. Выявлена определенная последовательность их включения в иммунный ответ. Клетки различной локализации отличались и по активности *MIF* продукции. Наилучшими продуцентами фактора оказались клетки перитонеального экссудата ($\text{ПУМ} = 62,3 \pm 3,4$), затем клетки лимфатических узлов и клетки селезенки (табл. 1).

Таблица 1

Изменение выработки <i>MIF</i> лимфоцитами мышей линии С57BL/6 при взаимодействии с сингенными клетками лимфоидных тканей		
Клетки лимфоидных тканей	Система <i>MIF</i> -продукции	ПУМ, % $\pm m$
ККМ _{инт} ККМ _{оп} ККМ _{имм} ККМ _{тэ} КС _{имм} КС _{оп} 7-е сут КС _{оп} 28-е сут КС _{тэ} КЛУ _{инт} КЛУ _{имм} КЛУ _{тэ}	КС _{инт} + ФГА	55,6 $\pm$ 4,7
	КС _{имм} + Тб	30,8 $\pm$ 3,8
	КЛУ _{имм} + Тб	42,4 $\pm$ 6,9
	КПЭ _{имм} + Тб	62,2 $\pm$ 3,4
	КС _{инт} + ФГА	44,6 $\pm$ 4,2
	КС _{инт} + ФГА	48,1 $\pm$ 4,5
	КПЭ _{имм} + Тб	45,7 $\pm$ 1,7
	КПЭ _{имм} + ТВ	46,3 $\pm$ 2,2
	КПЭ _{имп} + Тб	44,5 $\pm$ 2,3
	КС _{инт} + ФГА	52,8 $\pm$ 4,8
КЛУ _{имм} + ФГА КЛУ _{имм} + Тб КЛУ _{имм} + Тб КЛУ _{имм} + Тб КЛУ _{имм} + Тб КЛУ _{имм} + Тб	КС _{инт} + ФГА	—52,4 $\pm$ 9,4
	КС _{инт} + ФГА	—65,0 $\pm$ 6,1
	КПЭ _{имм} + Тб	53,6 $\pm$ 2,5
	КПЭ _{имм} + Тб	24,8 $\pm$ 3,2
	КС _{имм} + Тб	68,3 $\pm$ 2,8
	КПЭ _{имм} + Тб	10,5 $\pm$ 1,7

* — значение достоверно отличается от контроля (ПУМ в системе *MIF* продукции без добавления лимфоидных клеток).
В таблице 1 и 2 даны следующие обозначения: КПЭ — клетки перитонеального экссудата, КС — клетки селезенки, КЛУ — клетки лимфатических узлов, ККМ — клетки костного мозга, инт — клетки интактных мышей, узл — клетки иммунизированных БЦЖ мышей, тэ — клетки иммунизированных и тимэктомизированных мышей, оп — клетки мышей с меланомой В.16, Тб — туберкулин, ФГА — фитогемаглютинин, ПУМ, % $\pm m$ — значения процента угнетения миграции $\pm$ ошибка среднего.

Определена также в мышей стимулированных. Эти две модели основных взаимодействий в протекании этого процесса.

1. Регуляция выработки экспериментов по влиянию *MIF* продукцию обобщены

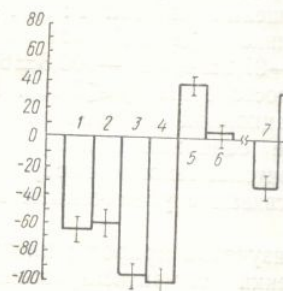


Рис. 1. Влияние клеток селезенки на выработку *MIF* клетками

а — на выработку *MIF*; *in vitro*: 4 — КС:КПЭ=1:5, 5 — иммунные КС прилипающей к стеклу популяции (КС КПЭ), 1 — прилипающие КС+иммунные КС+КПЭ тимэктомизированных мышей, 5 — иммунные КПЭ; в — влияние С57BL/6 *in vivo*; 1 — продукция 2 — *MIF* продукция интактных мышей ритительно обработанных АФТ-6, 3 — *in vitro*; 5 — 30 мин инкубация КПЭ с ли — исследуемая

перитонеального экссудата беркулину, и селезеночные ФГА. Проведено изучение тканей, полученных от мышей от животных с раком

Как следует из результатов клетки костного мозга, лимфоцитам (*MIF* продуцентам) и от выработки фактора.

Нами показано, что в 1-й супрессия выработки *MIF* эффекта проведена серия опытов полученных от мышей-опухолерации меланомы, к клеткам. Представляет большой интерес холеносителей на 21—28 сут способность угнетать продукцию ФГА (табл. 1). По-видимому, меланомой накапливаются продукты, что коррелирует с тем, что клетки лимфатических узлов мышей вызывают некое снижение выработки *MIF*. Наиболее ярко эффект выражается у лимфатических узлов (ПУМ-24,8 $\pm$ 3,2).

Определена также выработка *MIF* клетками селезенки intactных мышей стимулированными ФГА (ПУМ=55,6±4,7).

Эти две модели использованы как основные для изучения клеточных взаимодействий в продукции *MIF* и возможных механизмов регуляции этого процесса.

1. Регуляция выработки *MIF* в системе *in vitro*. Результаты экспериментов по влиянию клеток различных лимфоидных тканей на *MIF* продукцию обобщены в табл. 1. Продуцентами *MIF* были клетки

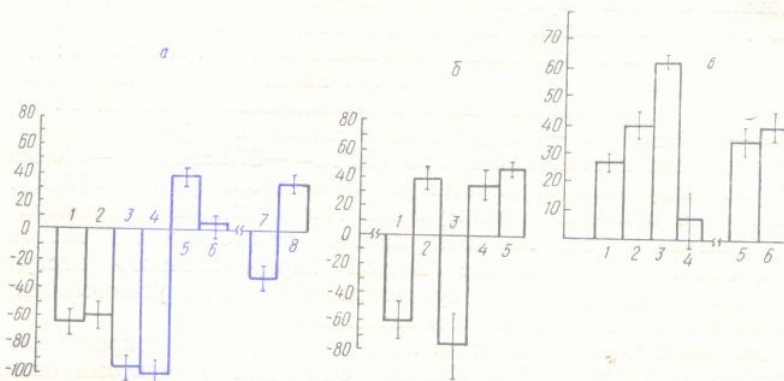


Рис. 1. Влияние клеток селезенки (КС) тимэктомированных мышей и АФТ-6 на выработку *MIF* клетками перитонеального экссудата (КПЭ).

а — на выработку *MIF*; *in vitro*: 1 — КС:КПЭ=1:1; 2 — КС:КПЭ=1:2; 3 — КС:КПЭ=1:3; 4 — КС:КПЭ=1:5; 5 — иммунные КПЭ, 6 — КПЭ на 3 сут после тимэктомии; *in vivo*: 7 — введение КС тимэктомированных мышей, 8 — введение intactных КС; б — влияние прилипающей и неприлипающей к стеклу популяций (КС) тимэктомированных мышей на продукцию *MIF* сингенными КПЭ, 1 — прилипающие КС+иммунные КПЭ, 2 — неприлипающие КС+иммунные КПЭ, 3 — прилипающие КС+КПЭ тимэктомированных мышей, 4 — неприлипающие КС+КПЭ тимэктомированных мышей, 5 — иммунные КПЭ; в — влияние АФТ-6 на выработку *MIF* КПЭ тимэктомированных мышей *S57BL/6 in vivo*: 1 — продукция *MIF* КПЭ тимэктомированных мышей после введения АФТ-6, 2 — *MIF* продукция intactных мышей при введении им КС тимэктомированных мышей, предварительно обработанных АФТ-6, 3 — intactные мыши, 4 — тимэктомированные животные (3 сут); *in vitro*: 5 — 30 мин инкубация КПЭ с АФТ-6, 6 — 60 мин инкубация КПЭ с АФТ-6. По горизонтали — исследуемая группа; по вертикали — значения ПУМ.

перитонеального экссудата или селезенки, сенсibilизированные к туберкулину, и селезеночные клетки intactных мышей, стимулированные ФГА. Проведено изучение влияния клеток различных лимфоидных тканей, полученных от intactных, иммунных, тимэктомированных мышей от животных с растущей меланомой В. 16.

Как следует из результатов, приведенных в табл. 1, intactные клетки костного мозга, лимфатических узлов, добавленные к спленоцитам (*MIF* продуцентам) в соотношении 1:1, достоверно не изменяют выработку фактора.

Нами показано, что в процессе роста меланомы В.16 наблюдается супрессия выработки *MIF* [3]. Для изучения причины описанного эффекта проведена серия опытов по добавлению клеток селезенки, полученных от мышей-опухоленосителей на разные сроки после инокуляции меланомы, к клеткам селезенки intactных сингенных мышей. Представляет большой интерес тот факт, что спленоциты мышей-опухоленосителей на 21—28 сут после перевивки опухоли приобретают способность угнетать продукцию *MIF* на неспецифический стимулятор ФГА (табл. 1). По-видимому, в селезенке мышей *S57BL/6* с растущей меланомой накапливаются и активируются клетки-супрессоры *MIF* продукции, что коррелирует с ростом опухоли [3]. Следует отметить, что клетки лимфатических узлов, костного мозга и селезенки от иммунных мышей вызывают незначительное, но статистически достоверное снижение выработки *MIF* клетками перитонеального экссудата. Наиболее ярко эффект выражен при добавлении клеток лимфатических узлов (ПУМ-24,8±3,2).

Наибольшая степень супрессии *MIF* продукции наблюдалась при добавлении клеток лимфоидных тканей от тимэктомированных иммунизированных мышей (табл. 1). Клетки селезенки и перитонеального экссудата тимэктомированных мышей вызвали полную отмену выработки медиатора (ПУМ соответственно равен $-65,0 \pm 6,1$ и $-52,6 \pm 6,5$). Добавление клеток костного мозга практически не влияло на выработку *MIF*. Поскольку наиболее выраженной супрессорной активностью обладали клетки селезенки тимэктомированных мышей, была исследована степень супрессии от соотношения взаимодействующих клеток. Клетки селезенки тимэктомированных мышей добавляли к *MIF* продуцентам в различных соотношениях 1:1, 1:2, 1:3, 1:5 (рис. 1, а). При сравнении результатов наблюдается разделение эффекта на два варианта: первый при соотношении клеток 1:1, 1:2 (ПУМ $= -65,0 \pm 6,1$, и $-61,5 \pm 5,6$ соответственно; $p \geq 0,01$), второй — при соотношении клеток 1:3 и 1:5 (ПУМ $= -97,8 \pm 4,8$ и $-100,3 \pm 6,9$; $p \geq 0,01$). Между этими группами различия достоверны ($p \leq 0,05$). Во второй группе отмеченная стимуляция миграционной активности макрофагов выражена больше, хотя процентное содержание клеток селезенки, мигрирующих сильнее клеток перитонеального экссудата, меньше. По-видимому, эффект супрессии не связан с увеличением миграции за счет добавления клеток селезенки.

В дальнейших экспериментах проведено изучение природы клеток-супрессоров выработки *MIF*. Клетки селезенки тимэктомированных мышей разделяли на прилипающую и неприлипающую фракции и исследовали их влияние на выработку фактора в описанной системе *in vitro*. Супрессорная активность была связана с прилипающей к стеклу субпопуляцией клеток (ПУМ $= -64,5 \pm 8,6$ %, рис. 1, б). Неприлипающая фракция клеток не влияла на продукцию *MIF* иммунными клетками перитонеального экссудата, но восстанавливала выработку лимфокина при добавлении к клеткам тимэктомированных сингенных мышей (ПУМ $= 41,7 \pm 3,7$). Вероятно, среди клеток селезенки тимэктомированных мышей присутствуют две субпопуляции: клетки супрессоры (прилипающая фракция) и эффекторы (неприлипающая фракция); одна из субпопуляций обратимо угнетает функцию другой.

Клетки-супрессоры оказались чувствительны к действию гидрокортизона. Продукция *MIF* у тимэктомированных мышей, которым внутрибрюшинно вводили гидрокортизон, составляла $46,8 \pm 1,9$ (у тимэктомированных мышей $+6,8 \pm 3,2$, $p \leq 0,001$).

Обобщая полученные результаты, можно сказать, что в результате тимэктомии в селезенке мышей накапливаются клетки-супрессоры, отменяющие выработку *MIF* сенсibilизированными лимфоцитами. По природе они являются T_1 субпопуляцией клеток. Это подтверждают следующие факты: тропность к селезенке, а не лимфатическим узлам, исчезновение через 5 нед после тимэктомии [10], способность прилипать к стеклу, кортизолчувствительность. Наше представление о накоплении клеток-супрессоров *MIF* продукции после удаления тимуса согласуется с результатами исследований, в которых в селезенке тимэктомированных крыс обнаружены неспецифические T_1 супрессоры, подавляющие пролиферативный ответ лимфоцитов на митогены [19].

После выяснения возможных механизмов феномена клеточной супрессии, была предпринята попытка его целенаправленной коррекции. С этой целью клетки селезенки тимэктомированных мышей линии С57В1/6 обрабатывали в течение 30 и 60 мин препаратом АФТ-6 в дозе 2 мкг на 5×10^6 клеток в мл [10]. Затем их добавляли к *MIF* продуцентам в соотношении 1:1. Супрессорная активность селезеночных клеток при этом исчезала (рис. 1, в). Данный факт является еще одним подтверждением Т-лимфоцитарной природы супрессирующих клеток. Известно, что препарат тимуса — тимозин вызывает дифференцировку

T_1 клеток в зрелые T_2 *MIF* [23]. Это и объясняет обработку АФТ-6.

В другой серии опыты клетки *MIF* клетками перитонеального экссудата и селезенки, их смешивали с лимфоцитами иммунизированной 1:1. Клетки получали из перитонеального экссудата и селезенки — на 6 сут, селезенки. Как видно из приведенных данных, являлась лишь при добавлении статистически достоверно различия с тимэктомированными мышами. При добавлении тимомысического эффекта объясняется среди клеток тимуса присутствующих активность клеток, способных регулировать супрессию в других системах.

Выработка *MIF* тимэктомированных клеток

Взаимодействующие клетки

КПЭ_{тэ} + КПЭ_{имм}
КПЭ_{тэ} + ККМ_{имм}
КПЭ_{тэ} + КС_{имм}
КПЭ_{тэ} + КЛУ_{имм}
КПЭ_{тэ} + КТ_{имм}
КПЭ_{тэ}

* — значение достоверно от контрольной (р ≤ 0,05).

Наряду с ингибирующими клетками в процессе выработки *MIF* происходит стимулирующее действие. Удалось значительное влияние при добавлении к слабым тимэктомированным к тимэктомированным (табл. 1). В данном случае продукция каждой популяцией клеток, супрессирующие выработку *MIF* спленоцитов, стимулируют выработку *MIF* спленоцитов. Таким образом, обобщая результаты, можно отметить следующие факты: 1) на выработку *MIF* интактными лимфоцитами ФГА, в то же время снижают выработку *MIF* тимомысический антиген — туберкулин; 2) действуют на клетки мишени перитонеального экссудата, селезенки, и активируют у селезенки; 3) явно выраженный супресс

T_1 клеток в зрелые T_2 лимфоциты, к которым относятся продуценты *MIF* [23]. Это и объясняет восстановление выработки лимфокина после обработки АФТ-6.

В другой серии опытов *in vitro* с целью восстановления выработки *MIF* клетками перитонеального экссудата тимэктомированных мышей, их смешивали с лимфоидными клетками различной тканевой локализации иммунизированных БЦЖ сингенных мышей в соотношении 1:1. Клетки получали на высоте иммунного ответа (клетки перитонеального экссудата и костного мозга на 3 сут лимфатических узлов — на 6 сут, селезенки — на 9 сут после иммунизации) [5]. Как видно из приведенных в табл. 2 данных, продукция фактора появлялась лишь при добавлении клеток селезенки и тимуса. Однако, статистически достоверное восстановление выработки *MIF* по сравнению с тимэктомированными мышами (ПУМ = +6,8+3,2) наблюдалось при добавлении тимоцитов (ПУМ = 24,7+4,3, $p \leq 0,05$). Механизм полученного эффекта объяснить сложно, можно лишь предположить, что среди клеток тимуса присутствует популяция «контрсупрессоров», снижающих активность клеток, супрессирующих *MIF* продукцию. Возможность регуляции супрессорной активности другими клетками показана и в других системах [2, 20].

Таблица 2
Выработка *MIF* клетками перитонеального экссудата
тимэктомированных мышей при взаимодействии с сингенными
клетками лимфоидных тканей

Взаимодействующие клетки	ПУМ, % $\pm m$	Количество наблюдений
КПЭ _{тз} +КПЭ _{имм}	-52,6* $\pm$ 6,5	23
КПЭ _{тз} +ККМ _{имм}	-110,5* $\pm$ 11,0	18
КПЭ _{тз} +КС _{имм}	+16,9 $\pm$ 2,7	14
КПЭ _{тз} +КЛУ _{имм}	-39,4* $\pm$ 12,1	13
КПЭ _{тз} +КТ _{имм}	+24,7* $\pm$ 4,3	15
КПЭ _{тз}	+6,8 $\pm$ 3,2	24

*—значение достоверно отличается от группы тимэктомированных мышей ($p \leq 0,05$).

Наряду с ингибирующим эффектом взаимодействия лимфоидных клеток в процессе выработки *MIF* наблюдалось и усиливающее взаимодействие. Удалось значительно повысить выработку лимфокина при добавлении к слабым продуцентам *MIF* — селезеночным клеткам сенсibilизированных к туберкулину клеток лимфатических узлов (табл. 1). В данном случае выработка лимфокина превышала его продукцию каждой популяцией в отдельности (ПУМ-68,3 $\pm$ 2,8). Вероятно, в селезенке мышей, иммунизированных БЦЖ, накапливаются клетки, супрессирующие выработку *MIF*, что объясняет низкий уровень продукции *MIF* спленоцитами (ПУМ=30,8 $\pm$ 3,8). Клетки лимфатических узлов инактивируют их активность.

Таким образом, обобщая результаты экспериментов в системе *in vitro*, можно отметить следующее: 1) клетки костного мозга не влияют на выработку *MIF* интактными клетками селезенки, стимулированными ФГА, в то же время снижают продукцию фактора на специфический антиген — туберкулин; 2) клетки лимфатических узлов различно действуют на клетки мишени: супрессируют *MIF* продукцию клетками перитонеального экссудата, которые являются лучшими *MIF* продуцентами, и активируют у слабоотвечающих селезеночных клеток; 3) явно выраженный супрессорный эффект обнаруживали клетки се-

на супрессирующих выработку *MIF*, в селезенке тимэктомированных мышей. Важным моментом является возможная коррекция выявленного дефекта *MIF* продукции после удаления тимуса. С этой целью мышам С57BL/6 вводили внутривенно АФТ-6 в оптимальной дозе 2 мкг на мышь [10]. Продукция *MIF* при этом восстанавливалась, но не до нормального уровня ($\text{ПУМ} = 26,6 \pm 2,6$; $p \leq 0,05$; см. рис. 1,б). Клетки селезенки тимэктомированных после их обработки Т-активином *in vitro* теряли свою супрессорную активность при переносе в сингенный организм.

Таким образом, выработка одного из важных медиаторов иммунной системы — *MIF* — сложный, кооперативный процесс, который контролируется клетками-регуляторами различной природы, макрофагами или лимфоцитами, а также гуморальными факторами тимуса. Показано, что к супрессии *MIF* продукции могут привести воздействия разных типов: введение в сингенный организм интактных или иммунных лимфоидных тканей, рост опухоли, тимус-зависимый иммунодефицит, возникающий в результате удаления тимуса. Полученные экспериментальные данные представляют интерес для дальнейшего изучения регуляторных механизмов клеточного иммунитета и открывают возможность разработки новых подходов в лечении ряда заболеваний.

R. V. Petrov, L. V. Kovalchuk, L. V. Gankovskaya,
N. Yu. Sotnikova, E. V. Sokolova

CELLULAR REGULATION MECHANISMS FOR PRODUCTION OF MACROPHAGE MIGRATION INHIBITION FACTOR IN EXPERIMENT

Summary

Cellular regulation of migration inhibition factor (MIF) production was studied *in vivo* and *in vitro*. MIF production is described as a complex cooperative process controlled by regulator-cells of various types: either macrophages or lymphocytes. The MIF production suppression may be evoked by various actions: injection of lymphoid cells in a syngenic organism, immunization by BCG, tumour growth and T-dependent immunodeficiency. Defect of the MIF production is corrected by injection of T-active fraction (AFT-6) and by transplantation of syngenic thymocytes.

Medical Institute, Moscow

Список литературы

1. Бурцева Л. В., Соколова Е. В., Ковальчук Л. В. Супрессирующее воздействие сингенных интактных клеток различных лимфоидных и кроветворных тканей на развитие клеточного иммунитета у мышей. — Докл. АН СССР, 1977, 233, № 4, с. 742—744.
2. Гамбаров С. С., Петров Р. В., Хаитов Р. М., Норимов А. Г. Повышение активности селезеночных клеток-супрессоров у мышей при опухолевом росте. — Докл. АН СССР, 1975, 244, № 5, с. 1195—1197.
3. Ганковская Л. В., Пыльнова Т. И., Соколова Е. В., Ковальчук Л. В. Выработка фактора, угнетающего миграцию макрофагов и рост меланомы В.16 при воздействии БЦЖ. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1980, 82, № 8, с. 972—975.
4. Гладышева Т. В., Санина И. В., Казакова С. М. Физико-химическая характеристика и биологическая активность фракции тимозина Т-Ф6. — Тр. 2-го Моск. мед. ин-та, 1978, 23, с. 78—79.
5. Ковальчук Л. В., Соколова Е. В., Бурцева Л. В. Развитие реакции клеточного иммунитета у мышей разных генотипов. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1976, 82, № 8, с. 972—975.
6. Ковальчук Л. В., Галактионов В. Г. Факторы взаимодействия макрофаг-лимфоцит. — Итоги науки и техники / ВИНТИ. Иммунология, 1981, 9, с. 80—109.
7. Ковальчук Л. В., Алейникова Н. В., Черменева Л. М. и др. Нарушение регуляторной функции тимуса в иммунных процессах и подходы к ее коррекции. — Журн. общ. биологии, 1981, № 5, с. 38—54.
8. Петров Р. В., Ковальчук Л. В., Соколова Е. В., Бурцева Л. В. Межлинейные различия в продукции медиаторов клеточного иммунитета у мышей. — В кн.: Материалы Всесоюз. конф. по общей и приклад. иммунологии. М., 1974, с. 290.

9. Петров Р. В., Ковальчук Л. В., Соколова Е. В., Бурцева Л. В. Генетический контроль выработки лимфокина, ингибирующего миграцию макрофагов у мышей.— Генетика, 1980, 16, № 10, с. 1825—1833.
10. Петров Р. В., Ковальчук Л. В., Сотникова Н. Ю. и др. Роль тимуса и селезенки в регуляции выработки фактора, ингибирующего миграцию макрофагов.— Иммунология, 1981, № 4, с. 57—61.
11. Петров Р. В. Формы взаимодействия генетически различающихся клеток лимфоидной системы (трехклеточная система иммуногенеза).— Успехи соврем. биологии, 1970, 69, № 2, с. 261—271.
12. Хаитов Р. М., Петров Р. В. Клетки-супрессоры костномозгового происхождения (В-супрессоры).— Итоги науки и техники/ВИНИТИ. Иммунология, 1978, т. 7, с. 77—98.
13. Adelman N., Cohen S., Yoshida. Strain variation in murine MIF production.— J. Immunol. 1978, 121, N 1, p. 209—212.
14. Altman L., Chassly B., Mackler B. Physicochemical characteristics of chemotactic lymphokines produced by human T- and B-lymphocytes.— J. Immunol, 1975, 115, N 1, p. 18—21.
15. Asherson G., Zembala H. Suppressor T cells in cell mediated immunity.— Brit. Med. Bul. 1976, 32, N 2, p. 158—164.
16. Bach J., Dardene M. Appearance of T cells markers in bone marrow rosette forming cells after incubation with thymosin, a thymus hormone.— Proc. Nat. Acad. Sci, USA, 1971, 68, N 11, p. 2734—2737.
17. Claman H. N. Immunologic complementation between thymus and marrow cells — a model for the two cells theory of immunocompetence.— Transplant. Rev., 1969, N 1, p. 92—113.
18. David J., Lawrence H. Delayed hypersensitivity in vitro. The specificity inhibition of cell migration by antigen.— J. Immunol., 1964, N 93, p. 274—278.
19. Folch H., Waksman B. In vitro responses of rat lymphocytes following adult thymectomy. Increased inhibition by splenic adherent cells of responses to Phytohemagglutinin.— Cell. Immunol., 1973, 9, N 1, p. 25—31.
20. Fox R., Rajarman K. Macrophage migration stimulation factor, migration inhibition factor and the role of cell in their production.— Cell. Immunol., 1979, 47, N 1, p. 69—78.
21. Gershon R., Cohen P. Suppressor T cells.— J. Immunol., 1972, N 108, p. 5861—5890.
22. Miller J. F. Studies on mouse leukaemia. The role of the thymus in leukaemigenesis by cellfree leukaemia filtrates.— Brit.— J. Cancer, 1960, 14, N 1, p. 93—98.
23. Nakamura R. M., Tokunaga T. Induction of suppressor cells in delayed type hypersensitivity to Mycobacterium bovis BCG in low-responses mice.— Infect. and Immunity, 1980, N 5, p. 331—335.
24. Thurman G., Rossio J., Goldstein A. Thymosin induced enhancement of MIF production by peripheral blood lymphocytes of thymectomized guinea pigs. New York: Acad. Press, 1977, p. 629—631.

Московский
медицинский институт

Поступила в редакцию
9.II 1982 г.

УДК 576.8-097:577.17

И. С. Гуш

ДЕЙСТВИЕ АГРЕГ НА СЕКРЕЦИЮ ГИ

Вопреки ранее приведенным сведениям о том, что базофилы имеют рецепторы для фиксации на них агрегированных комплексов [10] или агрегатов IgG [9]. Рецепторы от рецепторов для Fc-фрагментов IgG отличаются. Во-первых, насыщение на связывание агрегированных комплексов [7]. Сходные результаты получены у клеток животных, фиксировали агрегированные комплексы [10] или агрегаты IgG [9]. Это приводит к резкому возрастанию активности клеток насыщаются при обработке базовых клеток человека или его присутствии муноглобулина Е [7]. Различия в рецепторах, существующие между этими рецепторами муноглобулина Е на тучных клетках крыс тормозит последующую агрегацию IgG, но не наоборот. Агрегация IgG зависит от размера агрегатов, по-видимому, определенной агрегированной форме IgG, используемого в форме агрегатов, полученных тепловой обработкой. Это незначительно выше для животных, чем для человека.

Если присутствие рецепторов и способность фиксировать агрегаты IgG считать доказанным, то это имеет большое значение для клеток и базофилов, особенно в связи с тем, что блокирующие агенты, вызывающие гипосенсибилизацию, относятся к числу агентов, способных образовывать иммунные комплексы с антигенами. Возможное действие агентов не определено. Если действие анти-IgG-антител вызывает агрегацию IgG человека [11], что позволяет предположить, что действие агрегированного IgG человека требует специальных исследований. Не удалось выявить, что базофилы человека при действии агентов представляют интегральную часть иммунной системы, о принадлежности гомоцистов к подклассам IgG [2, 12].

УДК 576.8-097:577.17

И. С. Гущин, А. И. Зебрев, В. А. Алешкин

**ДЕЙСТВИЕ АГРЕГИРОВАННОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА G
НА СЕКРЕЦИЮ ГИСТАМИНА ИЗ ТУЧНЫХ КЛЕТОК КРЫС**

Вопреки ранее приведенным данным, в самое последнее время получены сведения о том, что клетки-мишени аллергии (тучные клетки и базофилы) имеют рецепторы не только к IgE, но и к IgG [5, 8, 9, 10, 14]. Наличие на этих клетках рецепторов к Fc_v-фрагменту обеспечивает фиксацию на них агрегированного IgG, испытываемого в форме иммунных комплексов [10] или агрегатов, полученных тепловой обработкой мономерного IgG [9]. Рецепторы для Fc_v-фрагмента, по-видимому, отличны от рецепторов для Fc_e-фрагмента, что вытекает из следующих данных. Во-первых, насыщение базофилов иммуноглобулином E не влияет на связывание агрегированного гамма-глобулина человека этими клетками [7]. Сходные результаты получены на тучных клетках крыс: тучные клетки животных, инфицированных *Nippostrongylu brasiliensis*, фиксировали агрегированный IgG_a в той же степени, что и тучные клетки интактных животных [9]. Поскольку такое инфицирование приводит к резкому возрастанию уровня IgE, можно думать, что тучные клетки насыщаются при этом иммуноглобулином E. Во-вторых, предварительная обработка базофилов агрегированным гамма-глобулином человека или его присутствие не меняют связывания меченного ¹²⁵I иммуноглобулина E [7]. Различие рецепторов к IgE и к IgG, если оно действительно существует, не исключает некоторых форм взаимодействия между этими рецепторами, так как недавно показано, что фиксация иммуноглобулина E на тучных клетках и базофильных лейкоцитарных клетках крыс тормозит последующую фиксацию на клетках агрегированных форм IgG, но не наоборот [14]. Степень связывания агрегированного IgG зависит от размера агрегата [9], и оптимальный уровень связывания, по-видимому, определяется оптимальным числом Fc_v-фрагментов в агрегированной форме IgG. При сравнимых размерах агрегированного IgG, используемого в форме иммунных комплексов или агрегатов, полученных тепловой обработкой иммуноглобулина G, степень связывания незначительно выше для иммунных комплексов [10].

Если присутствие рецепторов для Fc_v-фрагмента на клетках-мишенях и способность фиксироваться на них агрегированного IgG можно считать доказанным, то значение этой фиксации для функции тучных клеток и базофилов остается невыясненным. Между тем этот вопрос чрезвычайно важен в связи со следующими обстоятельствами. Известно, что блокирующие антитела, накапливающиеся в ходе специфической гипосенсибилизации, относятся к IgG (возможно, к подклассу IgG4 [6]) и способны образовывать иммунные комплексы с соответствующим аллергеном. Возможное действие таких комплексов на функцию клеток-мишеней не определено. Есть лишь отдельные данные о способности анти-IgG4-антител вызывать высвобождение гистамина из базофилов человека [11], что позволяет предположить гистамин-высвобождающее действие агрегированного IgG на клетки-мишени. Но и эти скудные данные требуют специальной проверки и объяснения, так как в сходных испытаниях не удалось вызвать высвобождения гистамина из базофилов человека при действии на них анти-IgG4-антител [15]. Все эти материалы представляют интерес и в связи с существующими сведениями о принадлежности гомоцитотропных антител не только к IgE, но и к подклассам IgG [2, 12].

ные различия справедливы для обоих использованных температурных режимов проведения реакции розеткообразования.

Уровень розеткообразования при использовании как агрегированного, так и дезагрегированного IgG имел тенденцию к усилению в случае проведения реакции при более низкой температуре (4 °C), однако соответствующие различия не были достоверными ($p > 0,05$).

Розеткообразование тучными клетками с эритроцитами барана, нагруженными агрегированным и дезагрегированным IgG

Характер обработки эритроцитов барана (ЭБ)	Число розеткообразующих тучных клеток (%)		Торможение (%) агрегированным IgG розеткообразования*	
	при 4 °C	при 37 °C	при 4 °C	при 37 °C
ЭБ+CrCl ₃ +агрегированный IgG	36,9±5,0	26,5±4,3	48,8±4,5	57,9±5,4
ЭБ+CrCl ₃ +деагрегированный IgG	20,8±5,1	16,3±2,5		
ЭБ+CrCl ₃	5,0±1,56	4,3±0,66		

* — тучные клетки предварительно инкубировали в присутствии агрегированного IgG (6 мг/мл) в объеме 200 мкл в течение 1 ч при 4 °C или 37 °C. Затем к клеткам добавляли 4 мл буфера, клетки однократно отмывали и использовали в реакции розеткообразования, соответственно, при 4 °C или при 37 °C. Контрольные порции клеток инкубировали при тех же условиях, но в отсутствие IgG. Приведены значения $M \pm m$. Результаты сравнения величин между собою представлены в тексте.

Специфичность розеткообразования проверена в опытах, в которых тучные клетки предварительно обрабатывали агрегированным IgG. Такая обработка при обоих использованных температурных режимах существенно ($p < 0,001$) тормозила реакцию розеткообразования.

Таким образом, представленные данные подтвердили возможность фиксации агрегированного IgG на тучных клетках, что согласуется с представлением о наличии соответствующих рецепторов на поверхности тучных клеток. Эти материалы соответствуют недавно опубликованным данным [9] и дополняют их, поскольку в цитированной работе не испытывали блокирующее действие предварительной обработки тучных клеток агрегированным IgG на последующую фиксацию иммуноглобулина, оцениваемую по реакции розеткообразования. Более того, в настоящем сообщении также показано, что розеткообразование осуществляется, хотя и в меньшей степени, с эритроцитами, нагруженными дезагрегированным IgG.

Тенденция к некоторому ослаблению розеткообразования при 37 °C по сравнению с таковым при 4 °C может быть объяснена «снятием» рецепторов для Fc_γ-фрагментов с поверхности клеток при повышении температуры [4]. Так как температурный режим инкубации при 37 °C является более физиологическим, эти условия были выбраны для последующих испытаний.

Испытание возможности фиксации IgG на тучных клетках проводили при величине pH, соответствующей 7,0. Выбор таких условий вызван тем, что, во-первых, они являются оптимальными для испытаний на тучных клетках и, во-вторых, при более высоких значениях pH наступает существенное торможение связывания агрегированного IgG с тучными клетками [9].

Проведенные испытания явились предпосылкой для выяснения возможного действия агрегированного IgG на функцию тучных клеток, оцениваемую по секреции из них гистамина. Испытание агрегированного и дезагрегированного IgG в широких пределах концентраций (от 0,1 до 1000 мкг/мл) показало, что в тех условиях (продолжительность инкубации до 1 ч при температуре 37 °C, pH 7,0), в которых осуществлялась фиксация IgG на тучных клетках, не происходит высвобождение из

них гистамина, превышающее спонтанный уровень секреции ($5,4 \pm \pm 1 \%$). Функциональную способность тучных клеток контролировали по реакции на действие избирательного высвободителя гистамина — вещества 48/80, использованного в дозе (2 мкг/мл), вызывающей максимальное высвобождение гистамина, соответствовавшее $69,2 \pm 3,0 \%$.

Внесение в среду инкубации свежей сыворотки крови крыс (конечное разведение от 1:5 до 1:100), как источника комплемента, не приводило к появлению гистаминвысвобождающего действия ни агрегированного, ни дезагрегированного IgG.

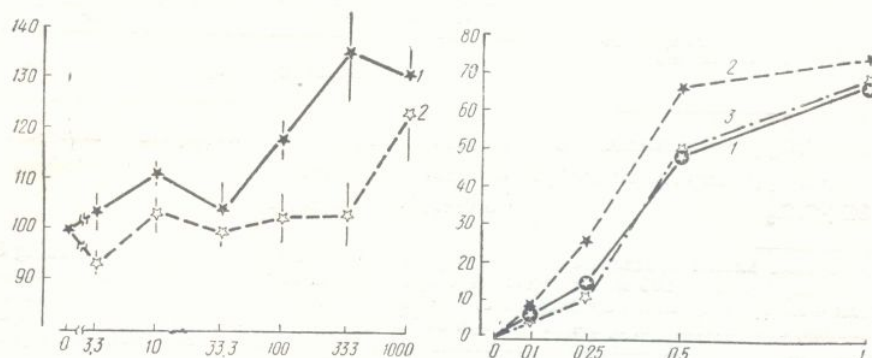


Рис. 1. Действие различных концентраций агрегированного и дезагрегированного IgG на высвобождение гистамина из тучных клеток, вызванное веществом 48/80.

По горизонтали — концентрация Ig G, мкг/мл. По вертикали — высвобождение гистамина в процентах к контролю. 1 — агрегированный Ig G, 2 — дезагрегированный Ig G. Тучные клетки (около $2 \cdot 10^4$ клеток в порции) инкубированы без или в присутствии агрегированного или дезагрегированного Ig G в 200 мкл в течение 1 ч при 37°C . Затем добавлено вещество 48/80 (0,25 мкг/мл) и инкубация продолжена на 5 мин. Реакция остановлена добавлением к клеткам 2 мл охлажденного буфера и перенесением пробирок на лед. Спонтанное высвобождение гистамина — $5,8 \pm 0,6 \%$. Высвобождение гистамина в контроле (при действии одного вещества 48/80) — $35,4 \pm 4,6 \%$.

Рис. 2. Действие агрегированного IgG на кривую «доза — ответ» для секреции гистамина, вызванной веществом 48/80.

По горизонтали — концентрация вещества 48/80, мкг/мл. По вертикали — высвобождение гистамина, %. 1 — контроль (в отсутствие Ig G), 2 — в присутствии агрегированного Ig G, 3 — в присутствии дезагрегированного Ig G. Тучные клетки ($2,9 \cdot 10^4$ клеток в порции) инкубированы без или в присутствии агрегированного (333 мкг/мл) или дезагрегированного (333 мкг/мл) Ig G в 200 мкл в течение 1 ч при 37°C . Затем добавлено вещество 48/80 и инкубация продолжена на 5 мин. Реакция остановлена добавлением к клеткам 2 мл охлажденного буфера и перенесением пробирок на лед. Спонтанное высвобождение гистамина — $5,0$, в присутствии агрегированного Ig G — $4,6 \%$, в присутствии дезагрегированного Ig G — $4,8 \%$.

В последующих опытах действие IgG на секрецию гистамина, вызванную веществом 48/80 в дозе (0,25 мкг/мл), оказывающей субмаксимальное действие, соответствующее $35,4 \pm 4,6 \%$ высвобождения гистамина из тучных клеток.

Известно, что вещество 48/80 является избирательным (нецитотоксическим) активатором тучных клеток, и механизм их активации при действии вещества 48/80 и специфического антигена сходен. Этим обстоятельством, а также возможностью получения четкой, зависимой от дозы активатора и постоянно воспроизводимой ответной реакции тучных клеток объясняется выбор вещества 48/80 в качестве агента, запускающего секрецию гистамина.

Рис. 1 иллюстрирует действие агрегированного и дезагрегированного IgG, испытанных в широких пределах концентраций, на секрецию гистамина, вызванную веществом 48/80. Как видно, повышение концентрации агрегированного IgG усиливает высвобождение гистамина, вызванное веществом 48/80. Усиливающее действие проявляется при испытании агрегированного IgG в концентрациях, превышающих 30 мкг/мл. Дезагрегированная форма IgG проявляет усиливающее действие только в наивысшей испытанной концентрации (1000 мкг/мл), что, возможно, связано с присутствием следов агрегированного IgG.

Различия между действиями значимы ($p < 0,05$) при добавлении в среду свертывания. Добавление в среду свертывания не меняло действия IgG на секрецию гистамина.

При оценке действия на вызванную секрецию гистамина обстоятельство. В приведенных концентрациях агглютинина учесть, что молекулярная масса мономеров IgG, т.е. эквивалентных соотношений.

Далее было испытано действие агрегированного IgG (333 мкг/мл) на секрецию гистамина. Вещество 48/80 в конце эксперимента — ответ, результаты которого с приведенными выше данными не отличались. Добавление гистамина, оказывающих субмаксимальное действие, существенно не влияло на секрецию гистамина, вызванную веществом 48/80.

Итак, полученные данные показывают, что агрегированный IgG по себе не вызывающий секреции гистамина, не потенцировал секрецию гистамина тучными клетками. Отсутствие действия агрегированного IgG и, в первую очередь, на секрецию гистамина, ожидающей активности, предположительно не меняет обоснованности роли секреции медиаторов воспаления, в стабилизации воспалительного процесса. Естественно, что результаты влияния агрегированного IgG на секрецию гистамина давно показано, что тучные клетки, вероятно, рецепторы к фрагменту IgG [16]. При этом из клеток медиаторов (серotonin, histamine) тучных клеток, указанных рецепторов тучных клеток, элиминацию агрегированного IgG антитело — аллерген.

I. S. Gushchin

EFFECT OF AGGREGATED IgG ON HISTAMINE SECRETION

Immunoglobulin G aggregate causes histamine release from mast cells of rats. Preliminary treatment of cells with formalin and further fixation on the cells. Aggregates of IgG (0.1 to 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) causes no histamine-releasing action of the selected blood serum of rats shows no histamine release. The effect of IgG does not change its effect on histamine release.

Institute of Immunology, Academy of Medical Sciences, USSR

Различия между действием агрегированного и дезагрегированного IgG значимы ($p < 0,05$) при испытании их в концентрациях 100 и 333 мкг/мл. Добавление в среду свежей сыворотки крови в указанных выше концентрациях не меняло действия агрегированного и дезагрегированного IgG на секрецию гистамина, вызванную веществом 48/80.

При оценке действия агрегированного и дезагрегированного IgG на вызванную секрецию гистамина необходимо иметь в виду следующее обстоятельство. В приведенных выше опытах испытаны одни и те же весовые концентрации агрегированного и дезагрегированного IgG. Если учесть, что молекулярная масса агрегированной формы превышает таковую мономера IgG, то при сопоставлении действия обеих форм в эквимольных соотношениях различия должны быть еще более существенными.

Далее было испытано действие оптимальной концентрации агрегированного IgG (333 мкг/мл) на высвобождение гистамина, вызванное веществом 48/80 в концентрациях, воспроизводящих всю кривую «доза — ответ», результаты чего представлены на рис. 2. В соответствии с приведенными выше данными, агрегированный IgG, как видно, усиливал секрецию гистамина, вызванную веществом 48/80 в концентрациях, оказывающих субмаксимальное действие. Дезагрегированный IgG существенно не влиял на характер кривой «доза — ответ» секреции гистамина, вызванной веществом 48/80.

Итак, полученные данные показали, что агрегированный IgG, сам по себе не вызывающий высвобождения гистамина из тучных клеток, потенцировал секрецию медиатора, вызванную избирательным активатором клеток. Отсутствие других видимых эффектов агрегированного IgG и, в первую очередь, отсутствие его собственной гистаминвысвобождающей активности, представляет интерес уже потому, что принципиально не меняет обоснованных ранее фармакологических способов контроля секреции медиаторов аллергии из тучных клеток, состоящих, в частности, в стабилизации клеток-мишеней аллергии [2].

Естественно, что результаты настоящего сообщения не исключают иных влияний агрегированного IgG на функцию тучных клеток. Так, недавно показано, что тучные клетки способны к фагоцитозу, опосредуемому, вероятно, рецепторами тучных клеток к C3 (c3b и c3b') и к Fc-фрагменту IgG [16]. Причем, фагоцитоз протекал без высвобождения из клеток медиаторов (серотонина). Отсюда возможно, что активация указанных рецепторов тучных клеток может обеспечивать фагоцитоз и элиминацию агрегированных форм IgG, в частности комплексов IgG — антитело — аллерген.

I. S. Gushchin, A. I. Zebrev, V. A. Aleshkin

EFFECT OF AGGREGATED IMMUNOGLOBULIN G ON HISTAMINE SECRETION FROM MAST CELLS OF RATS

Summary

Immunoglobulin G aggregated at 63°C is shown to be fixed on isolated mast cells of rats. Preliminary treatment of mast cells with aggregated IgG inhibits its further fixation on the cells. Aggregated IgG within a wide concentration range (from 0.1 to 1000 µg/ml) causes no histamine release from mast cells, but intensifies the histamine-releasing action of the selected histamine releaser — substance 48/80. The fresh blood serum of rats shows no histamine-releasing action of aggregated IgG and does not change its effect on histamine release induced by substance 48/80.

Institute of Immunology,
Academy of Medical Sciences, USSR, Moscow

Список литературы

1. Алешкин В. А. Получение моноспецифических антисывороток к иммуноглобулинам мыши. — Иммунология, 1980, № 3, с. 79—81.
2. Гущин И. С. Немедленная аллергия клеток. — М.: Медицина, 1976, —176 с.
3. Гущин И. С. Действие простагландина E_1 и папаверина на анафилактическое высвобождение гистамина из тучных клеток. — Патол. физиология, 1977, № 1, с. 32—35.
4. Лесков В. П., Халатян Н. А., Гущин И. С. Структура и функции рецептора для Fc-фрагмента IgG. — Иммунология, 1981, № 1, с. 17—26.
5. Böttcher I., Albring M. Direct evidence for the heterogeneity of IgE and IgG₁ receptor on murine mast cells. — Int. Arch. Allergy, 1981, 66, Suppl. 1, p. 78—81.
6. Giessen M. van der, Homan W. L., Kernebeek G. et al. Subclass typing of IgG antibodies formed by grass-pollen allergic patients during immunotherapy. — Int. Arch. Allergy, 1976, 50, N 6, S. 625—639.
7. Ishizaka T., Sterk A. R., Ishizaka K. Demonstration of Fc-gamma-receptors on human basophil granulocytes. — J. Immunology, 1971, 123, N 2, p. 578—583.
8. Moodley I., Mongar J. L. Histamine and immunology IgG receptors on the mast cell. — Agents and Actions, 1981, 11, N 1, p. 77—83.
9. Möller G., König W. Binding characteristics of aggregated IgG_a to rat basophilic leukaemia (RBL) cells and rat mast cells. — Immunology, 1980, 41, N 3, p. 605—615.
10. Möller G., König W. Binding parameters of defined immune complexes to rat basophilic leukaemia (RBL) cells. — Immunology, 1981, 43, N 2, p. 255—260.
11. Nakagawa T., Stadler B. A., de Weck A. L. Flow-cytometric analysis of human basophil degranulation. I. Quantification of human basophil and their degranulation by flow-cytometry. — Allergy, 1981, 36, N 1, p. 39—47.
12. Parish W. E. The clinical relevance of heat-stable, short-term sensitizing anaphylactic IgG antibodies (IgG S-TS) and of related activities of IgG₄ and IgG₂. — Brit. J. Dermatol., 1981, 105, N 4, p. 223—231.
13. Permin H., Skov P. S., Norn S., Juhl F. Basophil histamine release by RNA, DNA and aggregated IgG examined in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. Results compared with basophil counts and antinuclear antibodies. — Allergy, 1978, 33, N 1, p. 15—23.
14. Segal D. M., Sharrow S. O., Jones J. F., Siraganian R. P. Fc (IgG) receptors on rat basophilic leukemia cells. — J. Immunology, 1981, 126, N 1, p. 138—145.
15. Toorenenbergen van A. W., Aalberse R. C. IgG₄ and passive sensitization of basophil leukocytes. — Int. Arch. Allergy, 1981, 65, N 4, S. 432—440.
16. Vranian G., Conrad D. H., Ruddy S. Specificity of C3 receptors that mediate phagocytosis by rat peritoneal mast cells. — J. Immunology, 1981, 126, N 5, p. 2302—2306.

Институт иммунологии АМН СССР;
Московский институт эпидемиологии
и микробиологии МЗ РСФСР

Поступила в редакцию
20.I 1982 г.

УДК 612.127—008.9—097.3—085.273.53

Н. В.

О МЕХАНИЗМЕ ПРОТИВОСЕРДЕЧНОЙ И СОКРАЩАЮЩЕЙ МИОКАРДА

Для создания модели и систем широко применялись в иммунных цитотоксических крытих многих интимных антител с клеточной мембраной электрофизиологической области в мембранах. Так, была установлена низших животных к гомологии их эффекты на пассивности, их ультраструктуру.

Противосердечные антитела, структурные изменения, активность миокарда [1], и ферментативных процессов.

Однако физиологический рода начальных молекул развития иммунологического времени недостаточно изучен, актуального вопроса мической болезни и инфаркта механизма действия антител.

Настоящее исследование высказанного предположения комплекса антиген — антител система медленных процессов.

Мет

Опыты проведены на изолированной автоматической левом ушках предсердия (ПД) отводили сопротивлением кончика 30—40 Мом, его максимальной амплитуды, механоэлектрического преобразователя. Первую производную ПД регистрировали с помощью смонтированных, не обладающих автоматией, пульсами тока отрицательной полярности раствором Тироде, pH рас проводили при 35—36 °C.

Антикардиальный гамма-глобулин [14]. Иммунные сыворотки и реагировали (после стандартизации в разведении 1:800. В контрольной деленной из сыворотки крови не предварительно истощенный (гом) инфекции — 5-β-гемолитический стандартная гамма-глобулиновой фракции/мл.

УДК 612.127—008.9—097.3—085.273.53

Н. В. Ильчевич, Р. И. Янций

О МЕХАНИЗМЕ АКТИВИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОСЕРДЕЧНЫХ АНТИТЕЛ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ И СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МИОКАРДИАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Для создания модели иммунных повреждений различных органов и систем широко применяются специфические антитела, содержащиеся в иммунных цитотоксических сыворотках [1]. Большой интерес в раскрытии многих интимных сторон сложного механизма взаимодействия антител с клеточной мембраной представляют исследования с применением электрофизиологических показателей, определивших появление новой области в мембранологии — мембранной иммуонейрофизиологии. Так, была установлена высокая чувствительность нервных клеток низших животных к гомо- и гетерологичным антителам [6, 7] и обнаружены их эффекты на пассивные и активные электрические характеристики, их ультраструктурные и функциональные изменения [6].

Противосердечные антитела оказывают влияние на кардио- и гемодинамику, структурные изменения коронарных сосудов, электрическую активность миокарда [11, 14, 15] приводят к сдвигам в биохимических и ферментативных процессах.

Однако физиологический механизм и морфо-функциональная природа начальных молекулярных изменений миокардиальных клеток при развитии иммунологической реакции антиген — антитело к настоящему времени недостаточно изучены. Такие исследования важны для изучения актуального вопроса кардиологии — иммунной травмы при ишемической болезни и инфаркте миокарда, а также для выяснения общего механизма действия антител.

Настоящее исследование посвящено выяснению ранее нами [14] высказанного предположения о том, что при образовании иммунного комплекса антиген — антитело на миокардиальной клетке затрагивается система медленных потенциалозависимых натрий-кальциевых каналов.

Методика исследований

Опыты проведены на изолированных спонтанно-активным правом и не обладающим автоматией левом ушках предсердий морских свинок. Электрическую активность, потенциалы действия (ПД) отводили «плавающими» стеклянными микроэлектродами с сопротивлением кончика 30—40 МОм. Длительность ПД измеряли на 30 и 70 % уровень его максимальной амплитуды [1, 2]. Сокращения регистрировали с помощью механоэлектрического преобразователя 6MX1C в условиях приближенных к изометрическим. Первую производную ПД и сокращения (соответственно dv/dt , dp/dt) регистрировали с помощью смонтированного нами дифференциатора. Стимуляцию препаратов, не обладающих автоматией, осуществляли сверхпороговыми прямоугольными импульсами тока отрицательной полярности длительностью 3—5 мс. Препараты перфузировали раствором Тироде, pH раствора после насыщения карбогеном — 7,3—7,4. Опыты проводили при 35—36 °C.

Антикардиальный гамма-глобулин (гамма-АКС) получали по способу, описанному ранее [14]. Иммунные сыворотки обладали высокой видо- и органной специфичностью и реагировали (после стандартизации титра) в реакции связывания комплемента (РСК) в разведении 1:800. В контрольных опытах использовали глобулиновую фракцию, выделенную из сыворотки крови неиммунизированных кроликов (гамма-НКС), а также предварительно истощенный (гомологичным антигеном и антигеном стафилококковой инфекции — 5-β-гемолитический стрептококк группы А) иммунный гамма-глобулин. Концентрация гамма-глобулиновой фракции в тестирующем растворе составляла 0,5—1 мг белка/мл.

Особенность постановки экспериментов состояла в том, что эффекты антител изучали на интактном препарате и в условиях блокады ионно-транспортных систем миокардиальной клетки с помощью соединения Д-600 ($1 \cdot 10^{-6}$ г/мл), хлористого марганца (2 ммоль), ТТХ ($2 \cdot 10^{-6}$ г/мл), хлористого калия (15–20 ммоль). Полученные данные обработаны статистически и оценены по критерию Стьюдента с применением 5 % уровня значимости ($p < 0,05$).

Результаты исследований

Как показали результаты предыдущих наших опытов [14–15], антикардиальные антитела, специфические к сердечной мышце морской свинки и лягушки, в концентрации 0,5–1 мг белка/мл вызывают учащение ритмической активности в 1,5–2,5 раза, сопровождающееся увеличением силы сократительных ответов и скорости их нарастания. Электрические ответы — ПД претерпевали значительные изменения, наступало удлинение плато.

Однако определение истинной длительности ПД сердечных клеток, обладающих автоматией, при развившемся максимальном цитотоксическом эффекте антител, когда отмечается резкое увеличение частоты спонтанных ПД, затруднено по той причине, что тахикардия приводит к закономерному укорочению длительности плато ПД. В связи с этим необходимо было выяснить, влияют ли специфические антитела непосредственно на продолжительность ПД в клетках сократительного миокарда или же вызываемые эффекты связаны с изменением частоты спонтанной активности? Ответ был получен в опытах, в которых длительность ПД измеряли в зависимости от величины межимпульсного интервала в широком диапазоне частот в нормальном растворе Тироде и при действии антител. Как видно из рис. 1, А, в нормальном растворе Тироде увеличение продолжительности межимпульсного интервала сопровождается плавным нарастанием длительности ПД — измеренного на двух уровнях (соответственно кривые 1, 2). В большинстве клеток

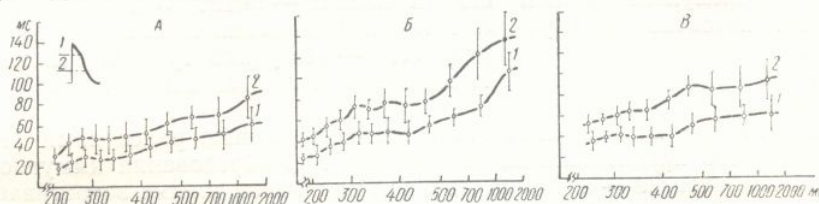


Рис. 1. Изменение длительности ПД мышечных клеток (вертикаль) ушек предсердий морской свинки, измеренного на двух уровнях (1, 2), в зависимости от продолжительности межимпульсного интервала (горизонталь).

А — в растворе Тироде нормального состава; Б — при действии антител в концентрации 0,5–1 мг белка/мл (10–15 мин регистрации); В — действие антител (0,5–1 мг белка/мл) в условиях предварительной блокады Na-Ca каналов (8–15 мин регистрации).

(71,9 % т. е. 697 из 969) величина межимпульсного интервала находилась в пределах от 300 до 500 мс. Продолжительность ПД в данном диапазоне частот соответственно составляла 27–44 мс (30 % реполяризация — уровень 1) и 45–56 мс (70 % реполяризация — уровень 2). Добавление же в раствор Тироде иммунного гамма-глобулина (0,5–1 мг/мл) сопровождалось развитием уже к 3–5 мин положительного хронотропного эффекта, что приводило к сдвигу спектра межимпульсных интервалов (рис. 1, Б) в сторону их уменьшения (до 290–180 мс). Несмотря на это, все же сохранялось расширение плато ПД, которое в тех же пределах частот соответственно составляло 49–55 и 77–85 мс ($n=618$ клеток, $p < 0,02$ или $p < 0,05$).

При увеличении межимпульсного интервала от 500 до 1500 мс на 15–20 мин действия антител, длительность ПД была максимальной (от 56 до 78 мс — уровень 1 и 80–125 мс — уровень 2), тогда как в норме эта величина была значительно ниже (44–50 мс и 55–72 мс),

($n=152$ клетки, $p < 0,01$ тивности клеток миокарда вводимых сокращений. Исшался на 1–4 мВ ($n=4$).

В контрольных опытах не наблюдалось достоверной активности ($p > 0,2$). Слный из НКС в 3 из 12 отов, вызывал незначительное положительное хронотропное действие на ханическую активно

Рис. 2. Действие антител на клетки миокарда в условиях блокады бета-адренергических рецепторов. а — электрические ответы в растворе Тироде; б — после добавления индлера (1 · 10⁻⁶ г/мл); в — 8 мин после антител (0,5 мг/мл); г — сопоставление ПД в нормальном растворе (кривая 1) при добавлении антител (кривая 2). Верхняя кривая — 1 нижняя — его производная.

($p > 0,05$). Если же гамма-глобулин антигеном и антителом, то эффект полностью отсутствует.

Следовательно, как и при автоматии в начале наблюдается четко выраженный усилением амплитуды.

Хорошо известно, что длительность плато ПД связана с ионными каналами, активация которых ответственно за увеличение мышечного сокращения при определении концентрации диффундирующих из области миофибрилл. Попадая для инициации отдельного плато ПД по медленному ионному каналу, было предположить, электрическую и механическую обусловлено усиление активацией медленных Na-фармакологическая блокада активирующее действие антител.

Однако для этого следовало бы наблюдать в опыте изменение частоты миокардиальных ответов через адренорецепторы не бета-рецепторы? Их активность увеличивается внутриклеточно. Результаты опытов (рис. 2, б–г) индлером (1 мг/мл) не вызвали эффектов антител, а именно сокращений. Интересного антиаритмического действия или прекращения аритмии.

($n=152$ клетки, $p<0,01$). Наблюдаемые изменения в электрической активности клеток миокарда сопровождались увеличением амплитуды развиваемых сокращений. Потенциал покоя при действии антител уменьшался на 1–4 мВ ($n=46$, $p<0,05$).

В контрольных опытах с гамма-НКС или истощенным гамма-АКС не наблюдалось достоверных изменений электрической и механической активности ($p>0,2$). Следует отметить, что гамма-глобулин, выделенный из НКС в 3 из 12 опытов, вызывал незначительное положительное хроно- и инотропное действие на механическую активность

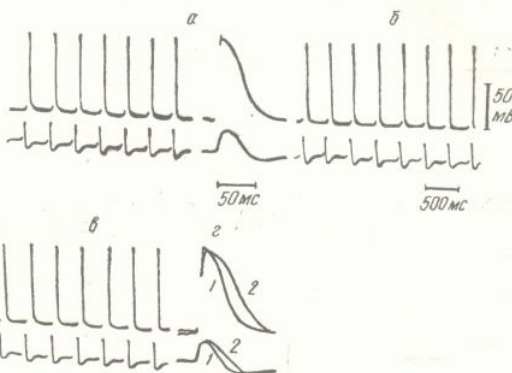


Рис. 2. Действие антител на клетки миокарда в условиях блокады бета-адренергических рецепторов.

а — электрические ответы в растворе Гирод; б — после добавления индерала ($1 \cdot 10^{-6}$ г/мл); а — 8 мин после аппликации антител (0,5 мг/мл); 2 — сопоставление ПД в нормальном растворе Тирод (кривая 1) при добавлении антител (кривая 2). Верхняя кривая — ПД, нижняя — его производная.

($p>0,05$). Если же гамма-НКС был предварительно истощен гомологичным антигеном и антигеном стрептококка, то вызываемые ранее эффекты полностью отсутствовали.

Следовательно, как при вызванной ритмической активности, так и при автоматии в начальный период действия (до 20–30 мин) антител наблюдается четко выраженное удлинение плато ПД, сопровождающееся усилением амплитуды сократительных ответов.

Хорошо известно, что в миокардиальных клетках фаза реполяризации плато ПД связана с функционированием медленных натрий-кальциевых каналов, активация которых ведет к удлинению плато ПД и соответственно к увеличению амплитуды развиваемых сокращений. Сила мышечного сокращения при прочих равных условиях главным образом определяется концентрацией свободных ионов кальция в миоплазме, диффундирующих из саркоплазматического ретикулума (СПР) в область миофибрилл. Пополнение запасов ионов кальция, необходимых для инициации отдельного сократительного акта, происходит во время плато ПД по медленным натрий-кальциевым каналам. Поэтому естественно было предположить, что стимулирующее действие антител на электрическую и механическую активность в начальный период их действия обусловлено усилением входящего потока ионов кальция, т. е. активацией медленных Na-Ca каналов. Если такой вывод верный, то их фармакологическая блокада должна оказать существенное влияние на активирующее действие антител.

Однако для этого следовало было выяснить, не обусловлены ли наблюдаемые в опыте изменения в электрической и сократительной активности миокардиальных волокон опосредованным действием антител через адренорецепторы, в частности, через находящиеся на мембране бета-рецепторы? Их активация, как известно [2], может приводить к увеличению внутриклеточных запасов кальция. Как показали результаты опытов (рис. 2, б—г), предварительная блокада бета-рецепторов индералом (1 мг/мл) не препятствует развитию описанных выше эффектов антител, а именно: нарастанию длительности ПД и изометрических сокращений. Интересно заметить, что действие индерала как эффективного антиаритмического средства [2] проявлялось в предупреждении или прекращении аритмий при альтерации иммунным гамма-глобулином.

Для дальнейшего анализа механизма активирующего действия антител были проделаны опыты в условиях блокады медленных Na-Са каналов миокардиальных клеток. Общие эффекты блокатора Na-Са тока Д-600 заключались в резком уменьшении частоты спонтанной активности предсердных волокон и перераспределении межимпульсных интервалов в сторону их увеличения. При этом в 61,4 % клеток (261 из 425) межимпульсный интервал находился в пределах от 450 до 2000 мс,

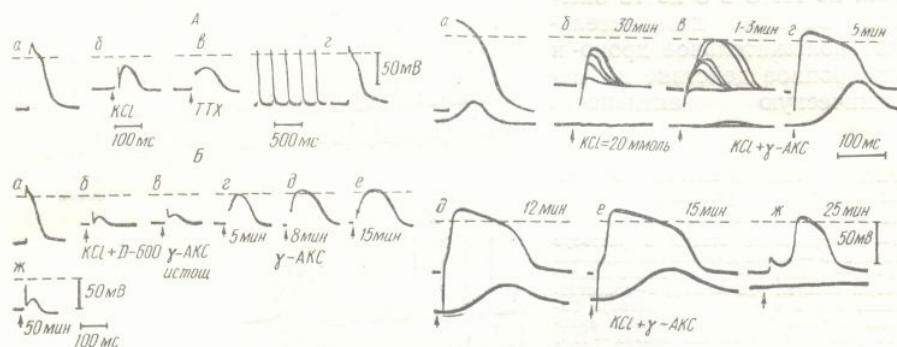


Рис. 3. Активация антителами электрической активности миокардиальных клеток при блокаде быстрых натриевых и Na-Са каналов.

А, а — спонтанный ПД в растворе Тироде; б — после добавления в раствор Тироде 20 ммоль KCl; в — в растворе с ТТХ ($2 \cdot 10^{-6}$ г/мл); г — восстановление спонтанных ПД в растворе Тироде нормального состава. Б, а — ПД в растворе Тироде; б — медленные ответы при совместном действии KCl и Д-600; в — неэффективность предварительно истощенного гамма-АКС (1 мг/мл) — 13 мин регистрации; г — ж — последовательность развития эффекта антител (1 мг/мл) в условиях блокады Na и Na-Са каналов. Уровень нулевого потенциала обозначен горизонтальной пунктирной линией. Частота стимуляции 1,5 Гц.

Рис. 4. Эффекты антител на электрическую и механическую активность клеток миокарда, деполяризованных ионами калия.

а — ПД и сокращение в исходном растворе Тироде; б — медленные ответы (в растворе с 20 ммоль KCl) на приложенные деполяризующие стимулы, полученные при различных силах раздражения; в — усиливающий эффект антител — 1 мг/мл; г — ж — динамика развития действия антител во времени. Частота стимуляции 1,5 Гц. Нулевой мембранный потенциал указан горизонтальными пунктирными линиями.

тогда как в нормальной солевой среде их величина составляла только 28,9 %. Длительность ПД существенно уменьшалась, и к 40—60 мин действия Д-600 наступало разобщение в процессах электромеханического сопряжения. Амплитуда ПД и величина ПП при этом практически не менялась. Вызванные эффекты Д-600 были обратимыми, что согласуется с подобными результатами других авторов [18].

Активирующее действие антител на электрическую активность (ПД) в условиях снижения кальциевой проводимости, как видно из рис. 1, В значительно уменьшалось. При совместном действии Д-600 и антител перераспределения межимпульсных интервалов не наступало, что свидетельствует об отсутствии положительного хронотропного эффекта при ингибировании медленных Na-Са каналов клеточной мембраны. Большинство клеток — 59,6 % (402 из 647) имели межимпульсный интервал в пределах от 450 до 2000 мс. Увеличение длительности ПД наступало только при более высоких величинах межимпульсных интервалов и находилось в промежутке от 550 до 1000 мс (т. е. при более низких частотах). При меньших интервалах (от 500 до 230 мс), а также при больших (более 1000 мс) антитела не вызывали увеличения длительности ПД и амплитуды сокращений. Проведенные опыты свидетельствуют о том, что блокада кальциевой проводимости значительно уменьшает стимулирующий эффект антител на миокардиальные клетки. Однако эти опыты проводились в условиях нормального функционирования быстрых натриевых каналов, а, как известно [20], во время деполяризации мембраны ионы кальция частично могут поступать в клетку и через натриевый канал, что затрудняет оценить истин-

ный вклад медленных Na действия противосердечны

Рассмотрим эффекты каналов в условиях вызвала. Как видно из рис. 3, клетки предсердия морских сопровождающиеся сокращением меренный внутриклеточно. Амплитуда ПД варьировала. Концентрация ионов Ca^{2+} в ПП клеток миокарда снижена на 60—50 % исходной величины. Спонтанная активность вызывала медленно нарастающие с активацией медленные ответы имели градуальности приложенного стимула к ТТХ (рис. 3, А, в). Вызванные ответы хорошо согласуются с данными на предсердии лягушки и млекопитающих.

При добавлении в депонированный из рис. 4, в, уже к 3—5 мин большие из них имели овершooting и удлиненное плато ПП. Такие ответы, исчезновение и ингибирование автоматии. Межимпульсные ответы усиливающий эффект антител достигал своего максимума в начале их действия (рис. 4, в). Это натриевого тока ТТХ тогда как инотропного действия антител не снижало фазы реполяризации. При этом скорость сокращения. Следовательно, антитела не снимают стимулирующего эффекта образования иммунного комплекса с мембраной возбудимой мембраны возникающих Na-Са каналов, то с уменьшением входящего тока доля развития положительной хронотропии клеток. Результаты одного из опытов (рис. 3, Б, в). В таких условиях опытным антигеном (ткань сердечной мышцы) оказывал какой-нибудь вариант РО (рис. 3, Б, в). В поддерживающий специфические антитела амплитуды и продолжительности сокращений. Правда, эффект антител уменьшенным по сравнению с калиевой деполяризацией ($p < 0,05$) вании медленных Na-Са кан-

Обсуждение

Полученный фактически связывает между функционированием клеток и взаимодействием с антителами частоты спонтанной активнос-

я ан-
Na-Ca
Na-Ca
ий ак-
сных
261 из
30 мс,



ток при

оль KCl;
юде нор-
действи
— 13 мин
блокады
1 линии.

ок мио-

20 ммоль
гражения;
д во вре-
ми пунк-

только
60 мин
аничес-
гически
согла-

ивность
одно из
Д-600 и
тупало,
ого эф-
мембра-
ульсный
сти ПД
интер-
и более
а так-
личения
иты сви-
ачитель-
иальные
о функ-
[20], во
т посту-
ь истин-

ный вклад медленных Na-Ca каналов в реализацию стимулирующего действия противосердечных антител.

Рассмотрим эффекты антител при «выключении» быстрых натриевых каналов в условиях вызванной и спонтанной активности клеток миокарда. Как видно из рис. 3, 4, в нормальном растворе Тироде мышечные клетки предсердия морской свинки генерируют потенциалы действия, сопровождающиеся сокращениями. Мембранный потенциал покоя, измеренный внутриклеточно в 189 клетках, составлял $-80,3 \pm 4,9$ мВ. Амплитуда ПД варьировала от 93 до 110 мВ. При повышении наружной концентрации ионов калия 15—20 ммоль в омывающем растворе ПП клеток миокарда снижался и к 20—30 мин перфузии составлял 60—50 % исходной величины. При этом овершут ПД полностью угнетался. Спонтанная активность прекращалась. Пороговые импульсы тока вызывали медленно нарастающие регенеративные ответы (РО), связанные с активацией медленных Na-Ca каналов (рис. 3, А, б). Электрические ответы имели градуальную природу, зависели от силы и длительности приложенного стимула (рис. 4, б) и были мало чувствительны к ТТХ (рис. 3, А, в). Вызванные изменения были обратимыми, что хорошо согласуется с данными, полученными другими исследователями на предсердии лягушки и морской свинки [21].

При добавлении в деполяризующий раствор гамма-АКС, как видно из рис. 4, в, уже к 3—5 мин действия антител возникали РО. Самые большие из них имели овершут и напоминали четко выраженное и к тому же удлиненное плато ПД (рис. 4, г). Иногда наблюдались спаренные ответы, исчезновение градуальности и даже кратковременное возникновение автоматии. Мембранный потенциал покоя не изменялся. Усиливающий эффект антител по восстановлению возбудимости сердечных клеток достигал своего максимального значения к 10—15 мин от начала их действия (рис. 4, г—е). Фармакологическая блокада быстрого натриевого тока ТТХ тоже не препятствовала развитию положительного инотропного действия антител. Наступало четко выраженное удлинение нисходящей фазы реполяризации ПД и увеличение амплитуды сокращения. При этом скорость нарастания переднего фронта ПД мало изменялась. Следовательно, инактивация быстрых натриевых каналов не снимает стимулирующего действия антител. Теперь, если же в процессе образования иммунного комплекса антиген — антитело на возбудимой мембране возникают функциональные сдвиги в системе медленных Na-Ca каналов, то совместная блокада как быстрого, так и медленного входящего тока должна уменьшить или даже предотвратить развитие положительной хроноинотропии антител на миокардиальные клетки. Результаты одного из опытов данной серии представлены на рис. 3. В таких условиях опытов предварительно истощенный гомологичным антигеном (ткань сердечной мышцы) иммунный гамма-глобулин не оказывал какого-нибудь выраженного действия на амплитуду и длительность РО (рис. 3, Б, в). В то же время иммунный гамма-глобулин, содержащий специфические антитела, уже к 5 мин вызывал увеличение амплитуды и продолжительности медленных ответов (рис. 3, Б, г—е). Правда, эффект антител на медленные ответы был значительно уменьшенным по сравнению с наблюдаемыми в условиях одной только калиевой деполяризации ($p < 0,02$), т. е. при нормальном функционировании медленных Na-Ca каналов.

Обсуждение результатов исследований

Полученный фактический материал подтверждает положение о связи между функционированием медленных Na-Ca каналов миокардиальной клетки и взаимодействием специфических антител с их мембранными антигенными детерминантами. Действительно, повышение частоты спонтанной активности, длительности плато ПД при действии

антител и связанное с ним прогрессирующее нарастание сократительной активности свидетельствует об усилении медленно входящего тока в клетку во время возбуждения. В то же время уменьшение активирующего действия антител при блокаде Na-Ca каналов доказывает правильность такого утверждения. Основанием для этого является твердо установленный факт, что главной транспортной системой в обеспечении миокардиальной клетки ионами кальция служат медленные Na-Ca каналы [12, 22, 23, 24]. Согласно этим данным, увеличение амплитуды сокращения сердечной мышцы морской свинки, а также скорости его развития является подтверждением того факта, что при действии антител в малых концентрациях в начальный период реакции антиген — антитело наступает перераспределение внутриклеточного содержания ионов кальция в сторону его возрастания. Об этом свидетельствует и увеличение прироста сокращений в лестнице Боудича при действии антител [15]. Хорошим примером в подтверждение сказанного служат полученные нами в опытах кривые зависимости ПД от интервала между импульсами, характеризующие время, за которое проводимость мембраны достигает величины покоя. При действии антител они смещались вверх и влево, свидетельствуя о том, что увеличение амплитуды изометрических сокращений не является результатом повышения частоты ПД, а вызывается усилением медленного Na-Ca тока. В подтверждение к сказанному свидетельствует и повышение частоты спонтанных ПД пейсмейкерных клеток при развитии реакции антиген — антитело, что сопровождалось увеличением скорости медленной диастолической деполяризации и снижением уровня возникновения потенциала действия [15]. Ибо усиление проводимости медленных Na-Ca каналов, как отмечают ряд исследователей [3, 4], имеет основное значение для генерации медленной диастолической деполяризации. Еще нагляднее это подтвердилось в опытах проведенных в условиях «выключения» быстрых натриевых каналов. Так, блокада одних только быстрых натриевых каналов недостаточна для прекращения автоматии и не препятствует развитию на возбудимой мембране реакции антиген — антитело. В условиях же блокады медленного тока хроно- и инотропный эффект противосердечных антител значительно уменьшался. Поскольку, наряду с усилением быстрого натриевого тока в развитии медленной диастолической деполяризации существенная роль принадлежит к усилению проводимости медленного Na-Ca канала, то это позволяет выдвинуть предположение о его вкладе в усиление ритмической активности при действии антител.

Увеличение частоты спонтанной активности возможно и при развитии деполяризации мембраны, т. е. при снижении ее критического уровня. Однако антитела незначительно изменяли уровень мембранного потенциала, чтобы вызвать тем самым ПД. Полученное в наших опытах частотное кардиостимулирующее действие антител не может быть и следствием усиления быстрого Na тока, т. к. ТТХ не препятствовал данному эффекту. Трудно поддается интерпретации и действие антител на систему калиевых каналов и, как следствие этого, уменьшение калиевой проводимости по медленному каналу. Поскольку блокада медленного Na-Ca тока D-600 устраняла эффекты положительной хронотропии антител, то можно предположить, что их кардиостимулирующее действие связано с усилением Na тока по медленному каналу. К тому же D-600 незначительно влияет на Na ток, подавляя его только на 7 % [20]. Кальциевый механизм инотропного действия антител на сердечную мышцу и натриевый — хронотропного косвенно подтверждены тем, что блокада Na-Ca тока уменьшает их эффект, а ингибирование Na каналов существенно не влияет на возрастание частоты.

Следует, однако, отметить, что в период максимального увеличения частоты спонтанных электрических разрядов и механической активности при эффектах антител, наряду с усилением медленного Na-Ca то-

ка, возможны и дополнительные ионами кальция. Это предполагает наличие в клетке ионную систему. Реализация Первой — это непосредственно систему, второй — связан с влиянием на цАМФ через белки предположение исходит из действия леотиды (цАМФ и цГМФ) связанными при активации есть данные о том, что при рецепторами происходит активация аденилциклазы, что ведет к увеличению цАМФ и позволяет большому количеству кальция поступить в клетку из внутриклеточных запасов и только увеличением его выхода из клетки. Данный эффект и состоит в том, что при цАМФ и цГМФ наблюдается нами в опытах на мышце при действии антител облегчение является результатом увеличения частоты ПД. Однако роль цАМФ в запасов кальция, возможна (не более 2—5 мин). Это вытекает из того, что антител уменьшаются, выражающаяся в пролонгации под влиянием цАМФ скорости, чем скорость укорочен.

Второй возможный механизм поступления ионов кальция в клетку (в эффектах аденоми антиген — антитело) на основании того, что специфическое действие антител приводит к уменьшению хронотропии. Его действие можно связать с Гистамином к тому же и является образованием иммунного комплекса.

Однако действие антител приводит к столь необходимым для жизни только в короткий промежуток времени опытов свидетельствуют о бо- активности, достигающей 20-.

В последние годы появились предположения о том, что особенно, антинейрональных натриевых каналов. Однако в условиях «выключения» натриевых каналов специфических антител не только становилось особенно отчетливо.

Следовательно, и эти результаты специфические антитела в малом действии (не более 30 мин), вызванных калием сердечных клеток миокарда Na каналов. Не исключена возможность влияния скорости работы натриевых каналов [8], приводит к повышению и связывания кальция и оказыва-

ка, возможны и дополнительные резервы обогащения клеточных запасов ионами кальция. Это прежде всего его увеличение через аденилциклазную систему. Реализация такого эффекта возможна двумя путями. Первый — это непосредственное действие антител на аденилциклазную систему, второй — связан с эффектами биологически активных веществ на цАМФ через бета-адренорецепторную систему. Так первое предположение исходит из того, что ионы кальция и циклические нуклеотиды (цАМФ и цГМФ) являются почти универсальными и взаимосвязанными при активации сократительного акта [5, 16]. Кроме того, есть данные о том, что при взаимодействии антител с клеточными рецепторами происходит активация связанного с мембраной энзима — аденилциклазы, что ведет к увеличению внутриклеточной концентрации цАМФ и позволяет большему, чем в обычных условиях, количеству кальция поступить в клетку во время возбуждения [10]. Обогащение внутриклеточных запасов ионами кальция может быть обусловлено не только увеличением его поступления в клетку, но и уменьшением его выхода из клетки. Данный механизм опосредован через элементы СПР и митохондрии и состоит в стимуляции захвата кальция этими структурами в присутствии цАМФ [17]. Подтверждением этого может служить наблюдаемое нами в опытах проявление феномена «отдачи» в сердечной мышце при действии антител. Как утверждает Нидергерке Р. [19], облегчение является результатом накопления кальция во внутриклеточных депо. Однако роль цАМФ, как активатора в увеличении клеточных запасов кальция, возможна только в первые минуты действия антител (не более 2—5 мин). Это вызвано тем, что спустя 3—5 мин после действия антител уменьшается скорость расслабления сердечной мышцы, выражающаяся в пролонгировании общего сокращения. В то же время, под влиянием цАМФ скорость расслабления увеличивается в большей мере, чем скорость укорочения [24].

Второй возможный механизм или дополнительный путь в обогащении поступления ионов кальция в клетку при иммунном воздействии состоит в эффектах адреномиметиков (высвобождающихся при реакции антиген — антитело) на бета-рецепторы. Данное предположение следует из того, что специфический блокатор бета-рецепторов — индерал приводил к уменьшению хронотропного эффекта антикардиальных антител. Его действие можно объяснить антигистаминным эффектом [9]. Гистамин к тому же и является регулятором выхода норадреналина при образовании иммунного комплекса антиген — антитело.

Однако действие приведенных регуляторных механизмов в обеспечении столь необходимых для сокращения ионов кальция возможны только в короткий промежуток времени (2—5 мин). Результаты наших опытов свидетельствуют о более длительной стимуляции механической активности, достигающей 20—30 мин от начала действия антител.

В последние годы появился ряд работ [6, 7, 11], в которых высказываются предположения о том, что при действии антикардиальных и, особенно, антинейрональных антител затрагивается система быстрых натриевых каналов. Однако результаты наших опытов, проведенных в условиях «выключения» натриевых каналов, показали, что действие специфических антител не только не ослаблялось на РО, но наоборот, становилось особенно отчетливым.

Следовательно, и эти результаты делают очевидным тот факт, что специфические антитела в малых концентрациях и в начальный период действия (не более 30 мин), восстанавливают возбудимость в деполяризованных калием сердечных волокнах увеличением кальциевой проницаемости клеток миокарда в результате активации медленных Na-Ca каналов. Не исключена возможность и эффектов антител на замедление скорости работы натриевого насоса, что, по данным Р. В. Гнилько [8], приводит к повышению концентрации ионов натрия вблизи мест связывания кальция и оказывает тем самым влияние на эффективность

высвобождения его из мест связывания. Это увеличивает его приток к миофибриллярному аппарату, повышая силу развиваемого напряжения в сердечной мышце. Мы не исключаем и роли данного механизма, т. к. антитела полученные ко всей «массе» мембранных структур и клеточных органелл, не могут иметь одну точку приложения. Возможно их несколько, но ведущей в данный период цитотоксической реакции, судя по нашим результатам, есть одна — изменение функционального состояния именно тех белковых структур клеточных мембран под влиянием противосердечных антител, которые ответственны за поступление ионов кальция в клетку. Это наглядно подтверждается современными представлениями о роли медленного тока в активации сокращения в сердечной мышце [12, 22, 23].

В заключение необходимо отметить и реакцию сердечных клеток на введение неиммунного гамма-глобулина. Причина здесь, по-видимому, связана с наличием в гамма-НКС аутоантител и антител, выработанных при жизни животных против антигенов стафилококковой инфекции. Эти антитела, как известно [13], могут фиксироваться на сердечной ткани и вызывать соответственно ее функциональные изменения. Уменьшение эффектов гамма-НКС после истощения антигенами сердечной мышцы и гемолитическим стрептококком свидетельствует о правильности такого предположения.

Таким образом, взаимодействие антител в начальный период развития реакции антиген — антитело на клеточной мембране миокардиальных клеток приводит к активации медленных Na-Ca каналов и как следствие к развитию положительного хроно- и инотропного эффекта. Развитию данной реакции не препятствует блокада бета-рецепторов и быстрых натриевых каналов. Ингибирование же медленного Na-Ca тока уменьшает развитие активирующего действия противосердечных антител на электрическую и механическую активность сердечной мышцы. Это делает правомочным предположение о роли медленных Na-Ca каналов возбудимой мембраны миокардиальных клеток в развитии иммунологической реакции антиген — антитело и реализации эффектов положительной хроноинотропии противосердечных антител.

N. V. Ilchevich, R. I. Yanchy

ON THE MECHANISM OF ACTIVATING ANTICARDIAC ANTIBODY EFFECT ON ELECTRICAL AND CONTRACTILE ACTIVITY OF MYOCARDIAL CELLS

Summary

Effect of specific antibodies (0.1-1 mg protein/ml) under conditions of selective blockade of the myocardial cell ion-transport systems is studied in experiments on isolated guinea pig auricula atrii with employment of intracellular recording of action potential and isometric voltage. It is stated that the blockade of fast sodium channels and β -adrenergic receptors does not hinder development of positive chronoinotropy of antibodies, whereas inhibition of slow Na-Ca channels diminishes development of their activating effect on the myocardium. A conclusion is made that anticardiac antibodies in the initial period of development of the immunological antigen-antibody reaction bring about an activation of slow Na-Ca channels.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Алексеева И. Н. Противопеченочные антитела и функции печени. — Киев: Наук. думка, 1980. — 181 с.
2. Аничков С. В. Избирательное действие медиаторных средств. — Л.: Медицина, 1974. — 295 с.
3. Бабский Е. Б., Бердяев С. Ю., Хорунжий В. А. Действие ионов марганца на автоматическую активность водителей ритма сердца лягушки. — Докл. АН СССР, 1973, 209, № 4, с. 996—999.

4. Бердяев С. Ю. Особенности синусного узла. — В кн.: Психодистонная система. Киев: Наук. думка, 1976, с. 48—58.
5. Волленбергер А., Виль Х., и ее отношение к роли кальция общей и клинической думка, 1976, с. 48—58.
6. Ворновицкий Е. Г., Беляев потенциал действия в периферии. биологии и медицины. Таллин: Б. и.
7. Гайнутдинов Х. Л. Исследования нейрональных мембран. Таллин: Б. и.
8. Гнитоко Р. В., Изаков В. Л. Лодочка лягушки методом с. 917—924.
9. Гуштин И. С. Анафилактический шок. — 1975. — 175 с.
10. Гуштин И. С. Немедленная реакция на электрическую стимуляцию. — Бюл. АН СССР, 1975, № 1, с. 175—176.
11. Ходоров Б. И., Ворновицкий Е. Г. Антитела на электрическую стимуляцию. — Бюл. АН СССР, 1975, № 1, с. 175—176.
12. Ходоров Б. И. Общая физиология. Таллин: Б. и.
13. Чумаков В. И., Сведлина Л. В. Развитие дистрофического процесса в сердечной мышце. Таллин: Б. и.
14. Янций Р. И. Роль специфического действия в сердечной мышце. — Бюл. АН СССР, 1975, № 1, с. 175—176.
15. Янций Р. И. Электрофизиология. Таллин: Б. и.
16. Hicks M. J., Shigekawa M., monophosphate-dependent protein kinase. — Circulation, 1975, 51, 1, 1—10.
17. Kirchberger M. A., Tada M., sphate-dependent protein kinase. — J. Mol. Cell. Cardiol., 1975, 15, 1, 1—10.
18. Kohlhardt M., Haastert H. P., mammalian myocardium fibre. — J. Mol. Cell. Cardiol., 1975, 15, 1, 1—10.
19. Niedriger R. Movements of the heart. — (Lond.), 1963, 167, N 3, p. 551—552.
20. Rasmussen H., Godman D. L. in cell activation. — Physiol. Rev., 1975, 55, 1, 1—10.
21. Reuter H. The dependence of calcium concentration. — J. Physiol., 1979, 291, 1, 1—10.
22. Reuter H. Divalent cations in the heart. — J. Physiol., 1979, 291, 1, 1—10.
23. Reuter H. Properties of two types of calcium channels in the heart. — J. Physiol., 1979, 291, 1, 1—10.
24. Thyrum P. T. Inotropic stimulation of the heart. — J. Pharmacol. and Ther., 1975, 18, 1, 1—10.

Отдел иммунологии и цитотоксикологии
Института физиологии им. А. А. Богomoletz

4. Бердяев С. Ю. Особенности ионной проницаемости мембран клеток—пейсмекеров синусного узла.— В кн.: Проблемы общей и клинической физиологии сердечно-сосудистой системы. Киев: Наук. думка, 1976, с. 7—15.
5. Волленбергер А., Виль Х., Краузе Е. Г. Система циклической АМФ-протеинкиназы и ее отношение к роли кальция в регуляции сердечного сокращения.— В кн.: Проблемы общей и клинической физиологии сердечно-сосудистой системы. Киев: Наук. думка, 1976, с. 48—58.
6. Ворновицкий Е. Г., Беляев В. И. Влияние гетерологических антител на генерацию потенциала действия в перехвате Ранвье изолированного нервного волокна.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1972, № 9, с. 16—18.
7. Гайнутдинов Х. Л. Исследование роли нервноспецифических белков в функционировании нейрональных мембран: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Л., 1978.—18 с.
8. Гинько Р. В., Изаков В. Я., Орлов Р. С. Исследование активности миокарда желудочка лягушки методом фиксации тока.— Физиол. журн. СССР, 1972, 58, № 6, с. 917—924.
9. Гушин И. С. Анафилаксия гладкой и сердечной мускулатуры.— М.: Медицина, 1975.—175 с.
10. Гушин И. С. Немедленная аллергия клетки.— М.: Медицина, 1976.—174 с.
11. Ходоров Б. И., Ворновицкий Е. Г., Колкер И. И. и др. Цитотоксическое действие антител на электрическую активность миокарда в отсутствие комплемента; защитный эффект гепарина.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1971, № 10, с. 17—20.
12. Ходоров Б. И. Общая физиология возбудимых мембран.— М.: Наука, 1975.—405 с.
13. Чумаков В. И., Сведлина Л. С. К вопросу о роли аутоиммунного компонента в развитии дистрофического процесса.— В кн.: Проблемы аутоаллергии в практической медицине. Таллин: Б. и., 1975, с. 78—79.
14. Янций Р. И. Роль специфических антител в процессе электромеханического сопряжения в сердечной мышце.— Физиол. журн., 1978, 24, № 5, с. 779—787.
15. Янций Р. И. Электрофизиологическое исследование действия антикардиальных антител на сердечную мышцу: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Киев, 1980.—21 с.
16. Hicks M. J., Shigekawa M., Katz A. M. Mechanism by which cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase stimulates calcium transport in cardiac sarcoplasmic reticulum.— *Circulat. Res.*, 1979, 44, N 3, p. 384—391.
17. Kirchberger M. A., Tada M., Repke D. L., Katz A. Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase stimulation of calcium uptake by canine cardiac microsomes.— *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1972, 4, N 6, p. 673—280.
18. Kohlhardt M., Haastert H. P., Krause H. Evidence of nospecificity of the Ca channel in mammalian myocardium fibre membranes.— *Pflügers Arch.*, 1973, 342, N 2, p. 125—136.
19. Niedergerke R. Movements of Ca in beating ventricles of frog heart.— *J. Physiol. (Lond.)*, 1963, 167, N 3, p. 551—580.
20. Rasmussen H., Godman D. B. Relationships between calcium and cyclic nucleotides in cell activation.— *Physiol. Res.*, 1977, 57, N 3, p. 421—448.
21. Reuter H. The dependence of slow current in Purkinje fibres on the extracellular calcium concentration.— *J. Physiol.*, 1967, 192, N 2, p. 479—492.
22. Reuter H. Divalent cations as charge carriers in excitable membranes.— *Prog. Biophys. and Mol. Biol.*, 1973, 26, N 1, p. 1—43.
23. Reuter H. Properties of two inward membrane currents in the heart.— *Ann. Rev. Physiol.*, 1979, 41, N 1228, p. 413—424.
24. Thyrum P. T. Inotropic stimulus and systolic calcium flow in depolarized guinea-pig atria.— *J. Pharmacol. and Exp. Ther.*, 1974, 188, N 2, p. 166—179.

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

Поступила в редакцию
28.1 1982 г.

УДК 616.13—004.6+616.153.915:612.017.1

И. М. Ганджа, И. П. Мягкая, М. В. Бобрик

ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ГИПЕРЛИПОПРОТЕИДЕМИИ

Участие органов иммунитета в регуляции уровня холестерина крови отмечено еще в тридцатые годы [9, 10] и подтверждено в более поздних исследованиях, где было показано, что при иммунизации животных, находящихся на обычном рационе, развивается гиперлипидемия [15, 20]. Наряду с этим установлено, что титр антител снижается, если у животных, независимо от условий эксперимента, развивается гиперхолестеринемия [14, 16]. Этому соответствуют и клинические наблюдения: у больных атеросклерозом титр антител к эластину оказался ниже, чем у здоровых [19]. Можно привести множество работ, в которых четко прослеживается связь между иммунитетом и липидным обменом. Это послужило поводом для изучения показателей иммунитета у больных атеросклерозом с различными типами гиперлипидемии (ГЛП).

Методика исследований

Обследовано 78 больных ишемической болезнью сердца (ИБС) — наиболее часто встречающейся клинической формы атеросклероза (65 мужчин и 13 женщин) в возрасте 40—60 лет. У всех больных изучены показатели липидного обмена и в случаях ГЛП проведено их фенотипирование в соответствии с рекомендациями А. Н. Климова и И. Е. Ганелиной. В отличие от рекомендуемых методик содержание холестерина исследовали по Илку, триглицеридов — по методу Ван-Ганделя и Зильверсмита в модификации Украинского института кардиологии, хроматографию липопротеидов производили в агарозе. У этих же больных изучено состояние Т- и В-систем иммунитета. Для тестирования Т-системы определяли содержание Т-лимфоцитов периферической крови по спонтанному розеткообразованию и их функциональные свойства: супрессорную активность с использованием Кон — А и ФГА, а также способность лимфоцитов к бластотрансформации (РБТЛ) с ФГА. Кроме того, реакция РБТЛ использована для изучения сенсбилизации лимфоцитов периферической крови антигенами, содержащимися в водно-солевом экстракте нормальной (ЭНА) и пораженной атеросклерозом (ЭПА) аорты.

В-систему иммунитета изучали по относительному и абсолютному содержанию В-лимфоцитов в периферической крови методом розеткообразования с эритроцитами, предварительно обработанными гемолитической сывороткой и комплементом с учетом рекомендации Йонсона, а также по содержанию в крови иммуноглобулинов классов G, M и A.

Контрольную группу составили 60 практически здоровых лиц в возрасте 35—50 лет с нормальным содержанием холестерина и триглицеридов периферической крови. ГЛП II-а типа была установлена у 23 больных, II-б — у 11, IV — у 38. У двух больных обнаружен III тип ГЛП. У четырех больных показатели липидного обмена были нормальными. Последние шесть случаев из разработки исключены. Таким образом, характер иммунологических реакций изучен у 72 больных трех групп с ГЛП типов II-а, II-б и IV. При выборе метода статистической обработки материала учитывали характер распределения значений: использован классический метод Стьюдента (критерий t) при правильном характере распределения результатов и непараметрический метод Вилкоксона — Манна — Уитни (критерий U) — при неправильном.

Результаты исследований и их обсуждение

У больных атеросклерозом Е-розеткообразующая способность лимфоцитов периферической крови значительно ослаблена (табл. 1). При сопоставлении с группой практически здоровых лиц достоверные различия обнаружены как по всей группе больных в целом, так и в каждой из подгрупп. Наиболее низкий процент Е-РОК обнаружен при II-б типе ГЛП, характеризующемся высоким содержанием холестерина и триглицеридов в сыворотке крови (при II-а типе повышено содержание

Таблица 1
Показатели иммунитета у больных атеросклерозом с различными типами гиперлипидемии

Тип гиперлипидемии	Показатель	Т-система				В-система			
		Е-РОК, %		Т-лимфоциты (в 1 мкл)		% супрессии		Бластотрансформация, в %	
		1	2	3	4	5	ЕАС-РОК, %	В-лимфоциты (в 1 мкл)	Иммуноглобулина (мг %)
II-а	Диапазон значений M ±m n	50—60	27,6—29,8	24—28,3	49—61	2—5	22—31	229—638	500—1680
		56,75**	28,7**	26,8**	56,4**	3,2	0,65	416	1089,13**
		0,85	3	—	2,2	0,34	16	29,9	63,5
II-б	Диапазон значений M ±m n	16	—	3	4	9	9	16	23
		—	—	—	—	—	—	—	—
		—	—	—	—	—	—	—	—

Таблица 1

Показатели иммунитета у больных атеросклерозом с различными типами гиперлипидемии

Тип гиперлипидемии	Показатель	Т-система				В-система				
		Е.РОК, %	Т-лимфоциты (в 1 мкл)	% супрессии		Бласттрансформация, в %			ЕАС-РОК, %	В-лимфоциты (в 1 мкл)
				1	2	3	4	5		
II-a	Диапазон значений	50—60	507—1299	27,6—29,8	24—28,3	49—61	2—5	6—12	22—31	229—638
	M	56,75**	906,8	28,7**	26,8**	56,4**	3,2	9,4	0,65	416
	$\pm m$	0,85	58	—	—	2,2	0,34	1,0	16	29,9
II-b	Диапазон значений	43—62	578—1123	—	3	49—60	3—6	7—14	22—38	381—936
	M	51,8**	831—12**	—	—	53,7**	4,2	10,4	29,5**	510
	$\pm m$	2,52	31	—	—	2,32	0,64	1,93	2,39	90,9
IV	Диапазон значений	42—67	380—1187	16,2—27,6	16,2—25,6	49—70	3—6	8—13	19—32	181—616
	M	54,96**	775,15***	22,55***	20,95**	60**	4,2	9	25,6*	360
	$\pm m$	1,23	34,01	1,9	1,67	2,55	0,3	0,4	0,64	21,3
Общая группа	Диапазон значений	42—67	380—1299	16,2—29,8	16,2—28,3	49—70	2—6	6—15	19—40	181—936
	M	55,4***	823,2**	24,2**	23,0**	57,3**	3,8*	9,6*	26,29**	401,4
	$\pm m$	0,75	28,54	1,5	1,3	1,56	0,21	0,47	0,66	23,4
Контроль	Диапазон значений	50—70	747,6—1617,7	24,5—58,1	23—50	60—78	2—10	2—10	17—30	248—606,3
	M	59,7	1036	43,2	41,68	71,2	4,8	8	22,1	384,6
	$\pm m$	1,07	37,2	2,90	2,34	1,2	0,86	0,86	0,7	22,83
	Диапазон значений	50—70	747,6—1617,7	24,5—58,1	23—50	60—78	2—10	2—10	17—30	248—606,3
	M	59,7	1036	43,2	41,68	71,2	4,8	8	22,1	384,6
	$\pm m$	1,07	37,2	2,90	2,34	1,2	0,86	0,86	0,7	22,83
	Диапазон значений	50—70	747,6—1617,7	24,5—58,1	23—50	60—78	2—10	2—10	17—30	248—606,3
	M	59,7	1036	43,2	41,68	71,2	4,8	8	22,1	384,6
	$\pm m$	1,07	37,2	2,90	2,34	1,2	0,86	0,86	0,7	22,83

Примечание. 1—% супрессии с Кон-А, 2—с ФГА, 3—бласттрансформация с ФГА, 4—с ЭНА, 5—с ЕПА. Результаты статистической обработки, проведенной при сопоставлении с группой здоровых: сопоставление численности Т- и В-лимфоцитов по критерию t , в остальных случаях по критерию U . * — $p < 0,1$; ** — $p < 0,05$; *** — $p < 0,01$ и более.

лишь холестерина). Численность Т-клеток, выраженная в абсолютных цифрах, также была сниженной, но при этом наибольшее снижение обнаружено при IV типе ГЛП. Поскольку IV тип ГЛП характеризуется высоким содержанием в крови триглицеридов и их транспортной формы — липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), возникло предположение о зависимости установленного факта от содержания триглицеридов. При сопоставлении содержания Т-лимфоцитов в периферической крови больных ИБС, сгруппированных в зависимости от уровня триглицеридов крови (т. е. с нормальными значениями и с выраженной гипертриглицеридемией), были обнаружены достоверные различия. Как следует из табл. 2, содержание Т-клеток, не отличающееся от нормального, обнаружено у лиц с содержанием триглицеридов, не превысившим 140 мг % (1,6 ммоль/л). При содержании триглицеридов, превысившем 200 мг % (2,28 ммоль/л), количество Т-лимфоцитов было достоверно ниже не только по сравнению с их содержанием в периферической крови практически здоровых лиц, но и с содержанием у больных, не страдающих гипертриглицеридемией. Однако корреляционный анализ выявил очень слабую связь между изучаемыми показателями.

Таблица 2
Сопоставление содержания Т-лимфоцитов периферической крови в зависимости от уровня триглицеридов крови больных ИБС

Статистический показатель	I	II	Контроль
<i>M</i>	942	769,6	1056
$\pm m$	57,9	28,22	68
<i>n</i>	16	32	15
<i>p</i>	$>0,05$	$<0,01$	
<i>p₁</i>		$<0,01$	

Обозначения: I—группа больных с нормальным содержанием триглицеридов; II—с повышенным. Контроль—здоровые лица; *p*—сопоставление с контролем; *p₁*—сопоставление с I группой.

Функции неспецифических Т-супрессоров определены у 10 больных, из которых у шести был IV, у трех — II-а и у одного — II-б типы ГЛП (табл. 1). Обнаружены большие различия в супрессорной активности Т-лимфоцитов периферической крови больных и здоровых. Наиболее выраженное снижение супрессорной активности было обнаружено при IV типе, хотя и у больных со II-а типом результаты достоверно отличались от полученных в контроле. Сопоставление результатов, полученных у больных с II-а и IV типами при использовании обоих митогенов, выявило достоверное различие ($P_t < 0,01$).

Установлено значительное снижение РБТЛ периферической крови, индуцируемой ФГА, в группах больных по сравнению с практически здоровыми людьми той же возрастной группы, не связанное с типом ГЛП. При сопоставлении результатов РБТЛ периферической крови с водно-солевыми экстрактами нормальной и атеросклеротической аорты в группах больных и здоровых как при использовании ЭНА, так и ЭПА различия не обнаружены. Вместе с тем степень РБТЛ больных обеих групп различалась в зависимости от того, нормальная или пораженная атеросклерозом аорта использовалась для тестирования. Применение ЭПА вызывало большую активность реакции по сравнению с действием ЭНА как в группе больных ($p_v < 0,01$), так и группе здоровых лиц ($p_v < 0,01$). Связь этих результатов с типом ГЛП также не обнаружена.

Процентное содержание ЕАС-розеткообразующих клеток в крови больных было достоверно повышенным как в каждой из подгрупп, так

и в объединенной группе фочитов периферической крови от контрольной, при этом абсолютные значения были более низкие при IV типе ГЛП.

Аналогичное распределение иммуноглобулинов при II-б типе, наиболее близким к наблюдению в группе больных обнаружено было у здоровых лиц. Иммуноглобулинов всех классов было больше в периферической крови больных, чем в контрольной.

Однако достоверности различий с использованием непарных критериев не было.

Проведенные исследования показали, что признаки недостаточности иммунной системы в периферической крови больных ИБС, снижением активности В-клеток периферической крови, снижением содержания их в крови больных, отмеченным у больных с II-а и II-б типами ГЛП и увеличением содержания в крови больных, подтверждались. По данным для обработки результатов исследования IgG при атеросклерозе на основании сведений о распределении иммуноглобулинов в настоящих исследованиях цитируемых авторами.

Повышению уровня IgG в периферической крови больных ИБС, по данным [7], из плазмы кроликов с атеросклеротической аортой, содержащей антитела к липопротеидам — антител к липопротеидам и пре-бета-липопротеидам.

Этим иммунным комплексом, содержащим антитела к липопротеидам, вызывается атеросклероз. Однако в настоящее время не удается выделить иммунные комплексы из крови больных ИБС. Антителом в большинстве случаев являются антитела к IgM у старых животных, что нарастание содержания антител к IgM связано не только с возрастом, но и с наличием в крови липопротеидов, но может быть связано и с наличием в крови антител.

Полученные в настоящих исследованиях данные о других показателях иммунитета в периферической крови больных ИБС в той мере соответствуют изложенным, что не является основанием еще раз высказываться о необходимости проведения дополнительных исследований.

При анализе результатов исследования иммуноглобулинов в периферической крови больных ИБС, особенно отчетливо они выявлены у больных с IV типом ГЛП. Оказалось, что при IV типе ГЛП содержание иммуноглобулинов в периферической крови было повышенным, и абсолютное количество иммуноглобулинов в периферической крови было повышенным. И хотя корреляционная связь между содержанием в крови

ж. М. В.

ютных
ие об-
ся вы-
формы-
дполо-
глице-
ческой
и триг-
женной
ия. Как
т нор-
превы-
еридов,
в было
перифе-
у боль-
ионный
телями.

и в объединенной группе больных. Но абсолютное количество В-лимфоцитов периферической крови объединенной группы мало отличалось от контрольной, при наличии различий в подгруппах. Наиболее высокие абсолютные значения были обнаружены при II-б типе ГЛП, наиболее низкие при IV типе.

Аналогичное распределение средних значений установлено при изучении иммуноглобулинов: наиболее высокие цифры обнаружены при II-б типе, наиболее низкие — среди больных атеросклерозом с IV типом ГЛП, у которых содержание иммуноглобулинов всех классов было близким к наблюдаемому в группе здоровых. В объединенной группе больных обнаружено несколько более высокое содержание иммуноглобулинов всех исследованных классов, чем у здоровых, особенно — иммуноглобулинов G.

Однако достоверность этих различий при статистическом анализе с использованием непараметрического критерия U не доказана.

Проведенные исследования показали, что у больных ИБС имеются признаки недостаточности Т-зависимой системы иммунитета: уменьшение в периферической крови содержания Т-клеток, снижение их супрессорной активности, снижение РБТЛ, индуцируемой ФГА. Количество В-клеток периферической крови при этом не изменялось, хотя относительное содержание их было достоверно повышенным. Наряду с этим в крови больных отмечено некоторое нарастание иммуноглобулинов М и А и увеличение содержания IgG, хотя достоверность различий не подтверждалась. По данным других авторов [5, 6], использовавших для обработки результатов параметрический критерий t , содержание IgG при атеросклерозе нарастает, однако в этих работах отсутствуют сведения о распределении показателей. При использовании критерия t в настоящих исследованиях обнаружено полное совпадение с результатами цитируемых авторов ($P_t < 0,01$).

Повышению уровня IgG при атеросклерозе придается определенное значение. По данным, полученным в лаборатории А. М. Климова [7], из плазмы кроликов с экспериментальным атеросклерозом и из атеросклеротической аорты человека выделены аутоиммунные комплексы липопротеид — антитело, содержащие в качестве антигена беталипопротеид и пре-беталипопротеид, а в качестве антитела IgG.

Этим иммунным комплексам отводится важная роль в развитии атеросклероза. Однако в дальнейшем А. Н. Климову и соавт. удалось выделить иммунные комплексы липопротеид — антитело, содержащие иммуноглобулины из крови и стенки аорты и у здоровых людей [8]. Антигеном в большинстве случаев являлись ЛПОНП. Имеются также сообщения о тенденции к повышению сывороточных IgG и IgA и снижению IgM у старых животных [19]. При этом нельзя упускать из виду, что нарастание содержания IgG, как и иммуноглобулинов других классов, связано не только с образованием аутоантител по отношению к липопротеидам, но может отражать и повышение иммунного ответа на любое антигенное раздражение, т. е. образование защитных антител.

Полученные в настоящем исследовании результаты изучения и других показателей иммунной системы при атеросклерозе в значительной мере соответствуют их изменениям при старении [18]. Это дает основание еще раз высказать предположение о близости атеросклероза и преждевременного старения.

При анализе результатов изучения показателей иммунитета в связи с типом ГЛП были установлены определенные закономерности. Особенно отчетливо они выступали при изучении Т-зависимой системы. Оказалось, что при IV типе ГЛП в большой степени снижено и процентное, и абсолютное количество Т-клеток, и их супрессорная активность. И хотя корреляционный анализ выявил очень слабую связь между содержанием в крови больных с IV типом ГЛП триглицеридов

0 боль-
II-б ти-
пной ак-
доровых.
по обна-
аты дос-
результ-
зовании

й крови,
ктически
с типом
крови с
кой аор-
[А, так и
больных
или по-
ирования.
о сравне-
к и груп-
ГЛП так-

в крови
групп, так

и Т-лимфоцитов, полностью отказаться от предположения о взаимозависимости их уровня в периферической крови трудно, так как все же при нормальном содержании триглицеридов обнаруживается более высокая способность лимфоцитов к Е-розеткообразованию. В этой связи небезынтересно указать, что состояние иммуносупрессии, вызванное в эксперименте на крысах ежедневным введением дексаметазона, сопровождалось развитием гипертриглицеридемии [17].

В объединенной группе больных, а также у больных с каждым из всех исследуемых типов ГЛП в отдельности установлено значительное снижение Т-супрессорной активности. При этом несколько отчетливее оно выступило в больных с IV типом ГЛП. Возможно, этот факт связан с ослаблением функции тимуса, наблюдаемым не только при старении, но и при атеросклерозе, о чем свидетельствует уменьшение содержания тимического фактора крови, обнаруженное у части обследованных больных, большинство которых имело IV тип ГЛП [2].

При отсутствии различий в средних значениях В-клеток периферической крови объединенной группы больных атеросклерозом и здоровых лиц удалось отметить тенденцию к увеличению их числа при II-б типе. В этом случае обнаружены наиболее высокие значения иммуноглобулинов всех изучаемых классов. При IV типе ГЛП, наоборот, наблюдались наиболее низкие значения как В-клеток, так и иммуноглобулинов.

Нам представляется не лишним интереса установление зависимости в содержании иммуноглобулинов основных классов от типа ГЛП: повышение их, в особенности IgG, при II-б и II-а и отсутствие отличий от показателей, наблюдаемых у здоровых лиц, при IV типе. Поскольку II тип ГЛП характеризуется гиперхолестеринемией, а IV, как уже упоминалось, — гипертриглицеридемией, возникло предположение о связи нарастания уровня IgG с содержанием холестерина и триглицеридов в крови больных, но зависимости между ними и IgG при корреляционном анализе мы не обнаружили. Однако мы не считаем это основанием отказаться от мысли об особенностях влияния как холестерина, так и триглицеридов на систему иммунитета.

Установленная нами зависимость содержания иммуноглобулинов основных классов от типа ГЛП позволяет в ряде случаев объяснить причину различий в результатах, полученных нами при изучении иммуноглобулинов G в иных группах больных и другими авторами, составом больных, принадлежностью их к различным типам ГЛП.

Таким образом, в результатах проведенных исследований четко выступила взаимосвязь нарушений липидного обмена и иммунологических показателей у больных атеросклерозом. Пока еще механизмы, объясняющие ее, не раскрыты. Тем не менее, клинические наблюдения свидетельствуют, что при использовании с лечебной целью иммуносупрессоров содержание холестерина в крови нарастает [1]. Гиперхолестеринемия установлена и при плазмоцитоме — заболевании, протекающем с явлениями недостаточности В-системы иммунитета. Алиментарная гиперхолестеринемия при экспериментальном атеросклерозе у кроликов вызывает иммунный ответ В-типа [13]. Стимуляция иммунной системы в эксперименте [11] и в клинике [12] приводила к коррекции некоторых показателей липидного обмена. С другой стороны, нормализация липидного обмена [3, 4] сопровождалась нормализацией ряда иммунологических тестов.

Результаты изучения РБТЛ периферической крови больных атеросклерозом с экстрактами тканей нормальной и пораженной атеросклерозом аорты подтверждают полученные рядом авторов наблюдения о большей степени интенсивности областрансформации лимфоцитов с ЭПА. По-видимому, эти различия обусловлены липопротеидами, так как ЭНА обладает крайне слабой способностью стимулировать Т-лимфоциты. Небезынтересен и тот факт, что повышенной чувствитель-

ностью к антигенам, содержащимся в том же возрасте, хотя и в меньшей степени. Это обстоятельство сенсibilизации липопрот и здоровых лиц. Получение значения иммунных ме

1. Установлены при у больных атеросклероза Т-клеток и снижением Т-при IV типе ГЛП, а также зависящим от фенотипа.

2. При отсутствии из больных атеросклерозом ния иммуноглобулинов о большей степени оно пов При IV типе содержание ния. Различия в резу но IgG у больных атерос нотики обследованных.

3. Интенсивность РБ ты, у больных и здоровы го, нормальная или пора для тестирования.

I. M. Gandzh

IMMUNITY INDICES IN

Phenotyping of hyperlipop T- and B-systems are studied in rotic genesis. The absolute and supression activity are found to A hypohemagglutinin-induced bl independent of a phenotype. B-ly elevated with all HLP types, bu of patients and healthy people lower in number with the 4th H with the 2nd-a and 2nd-b HLP 4th group it does not differ fr characteristic of IgM and IgA with atherosclerosis obtained by the phenotype of examinees. Lyt tive to water-salt extract stimu of atherosclerosis-affected aorta.

Advanced Training Institute for E

1. Алекберова З. С., Насонова тикостероидами больных кол
2. Гюллинг Э. В., Кравчук Г. Г. ных атеросклерозом. — Физио.
3. Дильман В. М., Берштейн Л. таболических нарушений у о мисклерона и дифенина. — Во
4. Дильман В. М., Остроумова мунодипрессия — Физиология
5. Евменова Т. Л. Иммунологи зом. — Журн. микробиологии,

анмо-
как
ается
анию.
ессии,
саме-

ностью к антигенам, содержащимся в ЭПА, обладают и здоровые лица того же возраста, хотя и в несколько меньшей степени, чем больные. Это обстоятельство, по-видимому, свидетельствует лишь о сенсibilизации липопротеидами лимфоцитов больных атеросклерозом и здоровых лиц. Полученные факты дополняют имеющиеся сведения о значении иммунных механизмов в атерогенезе.

Выводы

1. Установлены признаки недостаточности Т-системы иммунитета у больных атеросклерозом, проявляющиеся уменьшением численности Т-клеток и снижением Т-супрессорной активности, более выраженном при IV типе ГЛП, а также снижением РБТЛ, индуцируемой ФГА, не зависящим от фенотипа.

2. При отсутствии изменений в содержании В-лимфоцитов в крови больных атеросклерозом обнаружено небольшое нарастание содержания иммуноглобулинов основных классов, преимущественно IgG. В большей степени оно повышено при II-а и особенно при II-б типе ГЛП. При IV типе содержание IgG, IgM и IgA близкое к нормальным значениям. Различия в результатах изучения иммуноглобулинов, особенно IgG у больных атеросклерозом без учета типа ГЛП зависят от фенотипа обследованных.

3. Интенсивность РБТЛ, стимулированных экстрактом тканей аорты, у больных и здоровых существенно не отличается и зависит от того, нормальная или пораженная атеросклерозом аорта использовалась для тестирования.

I. M. Gandzha, I. P. Myagkaya, M. V. Bobrik

IMMUNITY INDICES IN VARIOUS HYPERLIPOPROTEINEMIA TYPES

Summary

Phenotyping of hyperlipoproteinemia (HLP) and immunity indices characterizing T- and B-systems are studied in patients with an ischemic cardiac disease of atherosclerotic genesis. The absolute and relative number of T-cells in peripheral blood and their suppression activity are found to decrease, more expressively with HLP of the 4th type. A hypohemagglutinin-induced blasttransformation of lymphocytes is stated to decrease independent of a phenotype. B-lymphocyte percentage in peripheral blood of patients was elevated with all HLP types, but the absolute amount of lymphocytes in a joined group of patients and healthy people is the same, though there was a tendency for them to lower in number with the 4th HLP type and to rise with the 2nd HLP type. In patients with the 2nd-a and 2nd-b HLP types the IgG content is found to get higher. In the 4th group it does not differ from the norm. Similar but less pronounced changes are characteristic of IgM and IgA as well. Differences in results of Ig study in patients with atherosclerosis obtained by various authors may depend, to a certain degree, on the phenotype of examinees. Lymphocytes of patients and healthy people are low-sensitive to water-salt extract stimulation of the normal aorta, but sensitive to stimulation of atherosclerosis-affected aorta.

Advanced Training Institute for Doctors, Kiev

Список литературы

1. Алекберова З. С., Насонова В. А. Липидный обмен при длительном лечении кортикостероидами больных коллагенозами.— Сов. медицина, 1967, № 10, с. 32—36.
2. Гюллинг Э. В., Кравчук Г. П., Мягкая И. П. Эндокринная функция тимуса у больных атеросклерозом.— Физиол. журн., 1981, 27, № 6, с. 741—745.
3. Дильман В. М., Берштейн Л. М., Цирлина Е. В. и др. О коррекции эндокринно-метаболических нарушений у онкологических больных. Эффект фенформина, адебита, мисклерона и дифенина.— Вopr. онкологии, 1975, 21, № 11, с. 33—40.
4. Дильман В. М., Остроумова М. Н., Благосклонная Я. В. и др. Метаболическая иммунодепрессия.— Физиология человека, 1977, 3, № 4, с. 579—586.
5. Евменова Т. Л. Иммунологический статус больных облитерирующим атеросклерозом.— Журн. микробиологии, иммунологии и эпидемиологии, 1978, № 12, с. 101—105.

им из
льное
ливее
г свя-
а ста-
ие со-
следо-
ферн-
здоро-
и II-б
имуро-
борот,
имуро-
ависи-
типа
ствие
типе.
а IV,
ложе-
и три-
G при
читаем
я как

улинов
яснить
ии им-
и, сос-

четко
нологи-
низмы,
юдения
иммуно-
ерхоле-
текаю-
ментар-
розе у
иммун-
к кор-
тороны,
изацией

с атеро-
роскле-
юдения
цитов с
ми, так
Т-лим-
твитель-

6. Кацман Р. Ф., Савенков П. М., Моисеева Е. Н. Иммунологическая реактивность у больных постинфарктным кардиосклерозом.— Кардиология, 1976, № 7, с. 100—104.
7. Климов А. Н. Некоторые вопросы патогенеза атеросклероза.— Кардиология, 1976, № 2, с. 12—17.
8. Климов А. Н., Денисенко А. Д., Зубжицкий Ю. Н., Герчиков Е. А. Обнаружение аутоиммунного комплекса липопротеид — антитело в плазме крови и стенке аорты человека.— Вопр. мед. химии, 1978, 24, № 4, с. 539—543.
9. Лейтес С. М. Вопросы жирового и липоидного обмена.— Клин. медицина, 1929, № 8, с. 484—495.
10. Лейтес С. М. О некоторых функциях селезенки в процессах обмена веществ.— Врачеб. дело, 1972, № 17—20, с. 174—179.
11. Манафова М. И. Действие АЦС на холестериновый обмен при различном функциональном состоянии организма.— В кн.: Реактивность соединительной ткани в норме, патологии и эксперименте. Баку, 1962, с. 42—43.
12. Мякая И. П. Влияние АЦС на липидный обмен у больных атеросклерозом.— Врачеб. дело, 1977, № 9, с. 8—12.
13. Пигаревский П. В., Нагорнев В. А., Зубжицкий Ю. Н. Иммунокомпетентная система кроликов при экспериментальном атеросклерозе.— Арх. патологии, 1980, 42, № 3, с. 40—45.
14. Плещитый Д. Ф., Боброва З. М. Об иммунологических изменениях при экспериментальном атеросклерозе.— Докл. АН СССР, 1967, № 3, с. 699—702.
15. Beaumont V., Beaumont J. L. L'hyperlipidemie experimentelle par immunization chez le lapin.— Pathol. et Biol., 1968, N 16, p. 869—876.
16. Dallochio M., Crockett R., Bricaud H. et al. Essai de prevention de l'atherosclerose experimentale par immunization a l'aide de β -lipoproteines humaines d'atheroscleroseux.— Arch. Mal. Coeur, 1967, 9, suppl. 1, p. 220—232.
17. Galla J. H., Beaumont J. L., Curtis J. J. et al. Alternate-day corticosteroid effect on lipid metabolism.— J. Lab. Clin. Med., 1978, 91, N 1, p. 123—126.
18. Макинодан Т., Гуд Р., Кей М. (Makinodan T., Good R., Kay M.) Клеточная иммунология старения.— В кн.: Иммунология и старение. М.: Мир, 1980, с. 22—38.
19. Robert A. M., Robert B., Robert L. Anticorps anti-elastine et atherome.— Ann. Inst. Pasteur, 1968, 115, p. 971—979.
20. Scebat L., Renais J., Groult W. et al. Lesions arterielles produites chez le rat par des injections d'un immunserum de lapin antiaorte de rat.— Rev. Franc. études clin. biol., 1966, 11, N 4, p. 388—395.

Киевский институт
усовершенствования врачей

Поступила в редакцию
12.11 1982 г.

УДК 612.357.3:612.015.348

РОЛЬ СИНТЕЗА ПОД ВЛИЯНИЕМ

Процессы синтеза б
ряда ее функций, в том
Образование канали
том натрия из гепатоцит
спорт происходит при у
[10, 15]. Желчные кисл
разования каналикулярн
[11, 17] либо воздействи
держание желчных кисл
пени зависит от белокс
многие этапы синтеза ж
куляции являются ферме
Прямым доказательс
вании жидкой части жел
нием циклогексимида. В
за 8 ч до начала сбора
у крыс [12].

Наши ранее проведе
ное введение больших до
дозе 6 мг белка в гамма
вызывает нарушение жел
щееся в снижении уровн
держания желчных кисл
 $\times 10^{-5}$ мг белка в гамма-г
фоне поражения печени
нормализации желчеотдел
вышением уровня желчет
АГЦС [3]. Установлено, ч
ется содержание сыворот
уменьшается активность
малых доз АГЦС повыш
печени и активность неко
детельствуют о возможно
чени при введении больш
ких процессов при введен

Целью настоящих исс.
между изменением уровн
малых доз АГЦС и интер
этого изучали белковообр
включения ^{14}C -белкового
ределяли уровень желчето
ный анализ связи между
тивность Na^+ , K^+ АТФазы
же изучали влияние цикло
применения АГЦС.

Ме

Исследования проведены на
мунизации кроликов антигенным
ма-глобулиновую фракцию. Боль

ость у
—104.
1976,

жение
аорты

1929,

эств.—

якцио-
норме,

зом.—

истема
№ 3,

примен-

n chez

clerose
roscler-

fect on

имму-
—38.

n. Inst.

par des
es clin.

дакцию
1982 г.

УДК 612.357.3:612.015.348

И. Н. Алексеева

РОЛЬ СИНТЕЗА БЕЛКА В ИЗМЕНЕНИИ ЖЕЛЧЕТОКА ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРОТИВОПЕЧЕНОЧНЫХ АНТИТЕЛ

Процессы синтеза белка в печени лежат в основе осуществления ряда ее функций, в том числе и образования жидкой части желчи.

Образование каналикулярной желчи, связано с активным транспортом натрия из гепатоцитов в желчные капилляры [7, 8, 9]. Этот транспорт происходит при участии белка—фермента Na^+ , K^+ АТФазы [10, 15]. Желчные кислоты оказывают влияние на интенсивность образования каналикулярной желчи созданием осмотического градиента [11, 17] либо воздействием на активность Na^+ , K^+ АТФазы [16]. Содержание желчных кислот в гепатоцитах и желчи в значительной степени зависит от белоксинтетических процессов в печени, поскольку многие этапы синтеза желчных кислот и их энтерогепатической циркуляции являются ферментозависимыми.

Прямым доказательством роли процессов синтеза белка в образовании жидкой части желчи являются результаты опытов с применением циклогексимида. Введение этого ингибитора белкового синтеза за 8 ч до начала сбора желчи тормозило спонтанное желчеотделение у крыс [12].

Наши ранее проведенные исследования показали, что пятикратное введение больших доз антигепатотоксической сыворотки (АГЦС) в дозе 6 мг белка в гамма-глобулиновой фракции на 100 г массы тела вызывает нарушение желчеотделительной функции печени, выражающееся в снижении уровня желчотока, уменьшении концентрации и содержания желчных кислот в желчи. Применение малых доз АГЦС (6×10^{-5} мг белка в гамма-глобулиновой фракции на 100 г массы тела) на фоне поражения печени четыреххлористым углеродом способствовало нормализации желчеотделительной функции, сопровождающейся повышением уровня желчотока на третьи сутки после последнего введения АГЦС [3]. Установлено, что под влиянием больших доз АГЦС снижается содержание сывороточных белков, синтезирующихся в печени, уменьшается активность ряда ферментов в печени, а под влиянием малых доз АГЦС повышается содержание водорастворимых белков в печени и активность некоторых ферментов [1, 2, 5]. Эти данные свидетельствуют о возможном нарушении процессов синтеза белка в печени при введении больших доз АГЦС и стимуляции белоксинтетических процессов при введении малых доз этой сыворотки.

Целью настоящих исследований было установить, имеется ли связь между изменением уровня желчотока у крыс под влиянием больших и малых доз АГЦС и интенсивностью белкового синтеза в печени. Для этого изучали белковообразовательную функцию печени по данным включения ^{14}C -белкового гидролизата в суммарные белки печени, определяли уровень желчотока, проводили регрессионный и корреляционный анализ связи между двумя этими показателями, определяли активность Na^+ , K^+ АТФазы в плазматических мембранах печени, а также изучали влияние циклогексимида на уровень желчотока в условиях применения АГЦС.

Методика исследований

Исследования проведены на 216 крысах линии Вистар. АГЦС получали путем иммунизации кроликов антигенным материалом из печени крыс. Из АГЦС выделяли гамма-глобулиновую фракцию. Большие дозы АГЦС (6 мг белка в гамма-глобулиновой

фракции на 100 г массы тела) вводили крысам пять дней подряд. Малые дозы АГЦС ($6 \cdot 10^{-5}$ мг белка в гамма-глобулиновой фракции на 100 г массы тела) вводили трехкратно на фоне поражения печени четыреххлористым углеродом. 0,4 мл 50 % масляного раствора CCl_4 вводили крысам под кожу трехкратно с интервалом в два дня. АГЦС применяли на следующий день после каждого введения CCl_4 .

Уровень желчеотока у крыс определяли в остром опыте под нембуталовым наркозом при шестичасовом сборе желчи. Интенсивность белкового синтеза изучали методом включения ^{14}C -белкового гидролизата в суммарные белки печени. Препарат в дозе 20 мкг/100 г массы тела вводили крысам внутривенно за 2 ч до забоя. Навеску перфузированной печени гомогенизировали с 0,85 % $NaCl$, центрифугировали 10 мин при 350 g. Белки осаждали ацетоном, растворяли в 30 % перекиси водорода при 60 °C, добавляли жидкий сцинтиллятор ЖС-8 и на автоматическом счетчике SL-30 определяли количество импульсов в мин, рассчитывая их на 1 мг белка. Активность Na^+ , K^+ АТФазы определяли в двух фракциях плазматических мембран печени: фракции, содержащей преимущественно каналикулярные мембраны, и фракции, содержащей преимущественно синусоидальные и латеральные мембраны гепатоцитов. Выделение двух фракций плазматических мембран проводили по [14]. Для этого микросомальную фракцию печени насливали на раствор сахарозы трех плотностей: 1,20; 1,16; 1,03 г/см³. После центрифугирования в течение 120 мин при 110000 g на границах плотностей сахарозы 1,20—1,16 обнаруживали слой частиц, состоящий из синусоидальных и латеральных мембран, а на границе плотностей сахарозы 1,16—1,03 — слой, состоящий из каналикулярных мембран. Активность Na^+ , K^+ АТФазы определяли по количеству фосфора, выделяемого в результате расщепления АТФ при участии АТФазы, активируемой ионами натрия и калия в присутствии ионов магния [13]. Для реакции использовали следующую инкубационную среду в конечных концентрациях: 2 ммоль $MgCl_2$, 100 ммоль $NaCl$, 20 ммоль KCl , 50 ммоль трис HCl , 2 ммоль АТФ, pH среды = 7,8.

Регрессионная зависимость между уровнем желчеотделения и интенсивностью белкового синтеза рассчитана методом наименьших квадратов. Расчет регрессионной зависимости проведен в лаборатории статистического анализа Института физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР.

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты включения ^{14}C белкового гидролизата в белки печени свидетельствуют о том, что пятикратное введение больших доз АГЦС вызывает угнетение белкового синтеза в печени (см. таблицу). В день последнего введения АГЦС интенсивность белкового синтеза составляет 35 % от уровня в контроле, на третьи сутки — 51 %, на пятые — 58 %. В эти сроки снижен и уровень желчеотока. К десятым суткам происходит восстановление как интенсивности белкового синтеза, так и желчеотделения. Коэффициент корреляции между количеством выделившейся желчи (уровень желчеотока) и количеством импульсов в мин на 1 мг белка (интенсивность белкового синтеза) в каждый отдельный срок наблюдения был низким ($r_{\text{контроль}}=0,370$; $r_{1\text{сут}}=0,256$; $r_{3\text{сут}}=-0,117$, $r_{5\text{сут}}=-0,069$; $r_{10\text{сут}}=0,001$). Однако, при расчете коэффициента корреляции в суммарной выборке (данные всех сроков наблюдения, $n=60$) он оказался высоким с большой степенью достоверности ($r=0,775$, $p<0,001$).

Регрессионный анализ выявил прямую пропорциональную зависимость между интенсивностью включения ^{14}C белкового гидролизата в белки печени и количеством выделившейся желчи в условиях применения больших доз АГЦС. Уравнение регрессии: $y=A+Bx$, где y — количество мл желчи, x — количество импульсов в мин при включении ^{14}C белкового гидролизата в белки печени — имело вид $y=0,07509+0,00024x$ со стандартной ошибкой коэффициента равной 0,00003. Линия регрессии представлена на рис. 1.

Под влиянием больших доз АГЦС снижалась активность Na^+ , K^+ АТФазы в каналикулярных мембранах гепатоцитов (рис. 2.) На третьи сутки после последнего введения АГЦС она составляла 54 % от активности фермента в этой фракции у контрольных животных. Активность Na^+ , K^+ АТФ-азы во фракции синусоидальных и латеральных мембран изменялась незначительно.

Таким образом, под влиянием больших доз АГЦС снижается как уровень желчеотока, так и интенсивность белкового синтеза. Оба процесса связаны линейной зависимостью, и между ними существует пря-

мая коррелятивная связь. Снижение белоксинтетических процессов в печени желчеотока. Снижение уровня желчеотока, снижение активности этого фермента Na^+ , K^+ АТФазы, снижение активности этого фермента гепатоцитов, 2) уменьшение

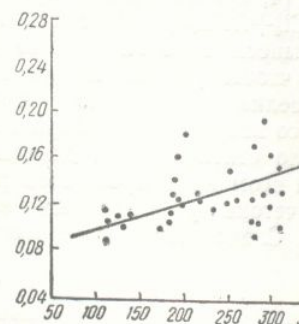


Рис. 1. Регрессионная зависимость интенсивности белкового синтеза в печени у крыс от интенсивности выделения желчи. По горизонтальной оси — интенсивность выделения желчи (имп/мин · мг белка), по вертикальной — интенсивность белкового синтеза (г/см³).

Рис. 2. Активность Na^+ , K^+ АТФазы в каналикулярных мембранах гепатоцитов на третьи сутки после пятикратного введения АГЦС. Белые столбцы — контроль, черные — АГЦС.

желчных кислот и их энтерогенного действия. Уменьшение желчеотока является уменьшением желчеотока в желчи после введения

Уровень желчеотока (л/сут) гидролизата в суммарной фракции

Время исследования, сут	Статистический показатель
Контроль	n $M \pm m$
1	n $M \pm m$ p
3	n $M \pm m$ p
5	n $M \pm m$ p
10	n $M \pm m$ p

Введение малых доз АГЦС вызывало на третьи сутки понижение желчеотока ($CCl_4 - 0,19$; $+АГЦС - 0,234 \pm 0,005$, $p<0,001$), а интенсивность белкового синтеза, по данным включен-

ы АГЦС
ли трех-
масыно-
ца дня.

м нарко-
ли мето-
т в дозе
Навеску
10 мин
ри 60 °С,
определя-
Na⁺, K⁺
книи, со-
стей преи-
ние двух
мальнойю
0,03 г/см³.
остей са-
латераль-
из кана-
фосфора,
емой ио-
вали сле-
Ю ммоль,

стью бел-
зной за-
азиологии

печени
з АГЦС
В день
состав-
ятые —
суткам
еза, так
вом вы-
в в мин
дельный
 $t_{сут} =$
з коэф-
ков на-
остовер-

зависи-
юлизата
ях при-
Бх, где
и вклю-
вид $y =$
равной

Na⁺, K⁺
а третьи
т актив-
тивность
мембран

ется как
оба про-
ирует пря-

мая коррелятивная связь. Это дает основание полагать, что ослабление белоксинтетических процессов в печени является основой уменьшения желчотока. Снижение синтеза белка, в печени, по-видимому, влияет на уровень желчотока двумя основными путями: 1) уменьшением синтеза фермента Na⁺, K⁺ АТФазы, о чем косвенно свидетельствует снижение активности этого фермента в плазматических мембранах гепатоцитов, 2) уменьшением ферментозависимых процессов синтеза

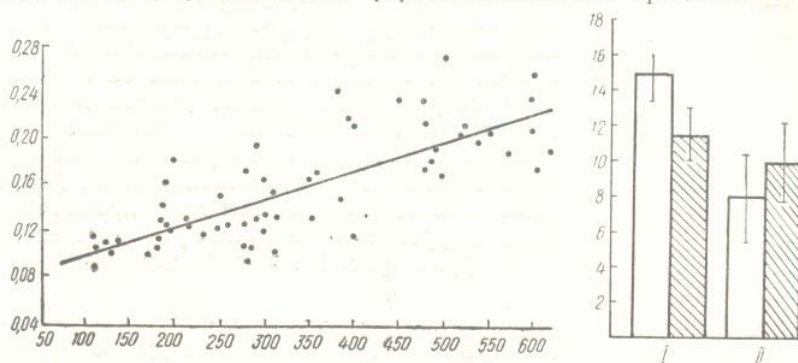


Рис. 1. Регрессионная зависимость между уровнем желчотока и интенсивностью белкового синтеза в печени у крыс в условиях применения больших доз АГЦС.

По горизонтали — интенсивность включения ¹⁴С белкового гидролизата в суммарные белки печени (имп/мин · мг белка), по вертикали — уровень желчотока (мл/100 г массы тела · ч).

Рис. 2. Активность Na⁺, K⁺ АТФазы в плазматических мембранах гепатоцитов на третьи сутки после пятикратного введения больших доз АГЦС (ммоль Р_i/мг белка · ч). I — контроль, II — АГЦС. Белые столбики — каналикулярные мембраны, заштрихованные — синусоидальные и латеральные мембраны.

желчных кислот и их энтерогепатической циркуляции, доказательством чего является уменьшение концентрации и содержания желчных кислот в желчи после введения АГЦС [3].

Уровень желчотока (I) и интенсивность включения ¹⁴С белкового гидролизата в суммарные белки печени (II) у крыс после пятикратного введения доз АГЦС

Время исследования, сут	Статистические показатели	I		II	
		мл желчи/100 г массы тела · ч		имп/мин · мг белка	
Контроль	n	12		12	
	M ± m	0,207 ± 0,010		484 ± 26	
1	n	12		12	
	M ± m	0,112 ± 0,005		169 ± 18	
	p	<0,001		<0,001	
3	n	12		12	
	M ± m	0,124 ± 0,007		248 ± 12	
	p	<0,01		<0,01	
5	n	12		12	
	M ± m	0,139 ± 0,007		279 ± 19	
	p	<0,01		<0,01	
10	n	12		12	
	M ± m	0,198 ± 0,007		503 ± 23	
	p	>0,5		>0,5	

Введение малых доз АГЦС на фоне трехкратного применения CCl₄ вызывало на третьи сутки после последнего введения увеличение уровня желчотока (CCl₄ — 0,193 ± 0,014 мл/ч · 100 г массы тела; CCl₄ + АГЦС — 0,234 ± 0,005, $p < 0,01$). В этот срок активность белкового синтеза, по данным включения ¹⁴С белкового гидролизата в белки пе-

чени, при введении АГЦС — выше, чем при введении одного CCl_4 , CCl_4 — 230 имп/мин·мг белка; CCl_4 +АГЦС — 540 ($p < 0,001$).

Для того, чтобы проверить, обусловлено ли повышение уровня желчотока увеличением интенсивности белкового синтеза, мы провели исследования с применением ингибитора белкового синтеза антибиотика циклогексимида. Циклогексимид начинает снижать синтез белка в печени непосредственно после введения, прерывая его на уровне терминации трансляции [4, 6]. Введение крысам, получавшим CCl_4 и CCl_4 +АГЦС, циклогексимида в дозе 0,2 мг/100 г массы тела за 5 ч до начала сбора желчи (чтобы успели истощиться имеющиеся запасы белка) снижало уровень желчотока. Начиная со второго часа сбора желчи это снижение было статистически достоверным. Важно, что при этом нивелировалась разница в уровне желчотока у животных этих двух групп (рис. 3). Следовательно, есть осно-

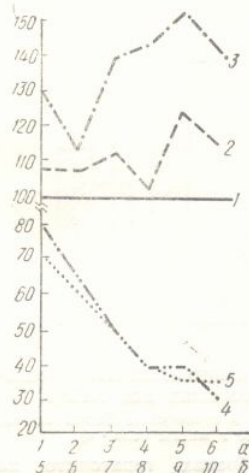


Рис. 3. Влияние циклогексимида на уровень желчотока у крыс на третьи сутки после трехкратного введения малых доз АГЦС на фоне поражения печени CCl_4 .

По горизонтали: а — время от начала сбора желчи (часы), б — время после введения циклогексимида (часы). По вертикали: уровень желчеотделения (процент к контролю). 1 — контроль, 2 — CCl_4 , 3 — CCl_4 +АГЦС, 4 — циклогексимид+ CCl_4 , 5 — циклогексимид+ CCl_4 +АГЦС.

вание считать, что прирост желчотока у крыс, получавших АГЦС на фоне применения CCl_4 , по сравнению с крысами, получавшими только CCl_4 , обусловлен увеличением интенсивности белкового синтеза. Усиление белкового синтеза в печени влияет на желчоток, по-видимому, посредством увеличения синтеза Na^+ , K^+ АТФазы, поскольку активность этого фермента в каналикулярных мембранах гепатоцитов у крыс, получавших АГЦС, выше, чем у крыс с введением одного CCl_4 (CCl_4 — 5,6 ммоль P_i /мг белка·ч; CCl_4 +АГЦС — 9,4, $p < 0,05$). Активность Na^+ , K^+ АТФазы во фракции синусоидальных и латеральных мембран гепатоцитов под влиянием АГЦС существенно не изменилась (CCl_4 — $5,7 \pm 2,6$; CCl_4 +АГЦС — $5,1 \pm 1,2$, $p > 0,5$).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в основе изменения желчотока под влиянием различных доз антигепатотоксической сыворотки лежит нарушение интенсивности белкового синтеза в печени. Реализация нарушения синтеза белка в изменении желчотока происходит, по-видимому, через синтез Na^+ , K^+ АТФазы и ферментозависимые процессы синтеза желчных кислот и их энтерогепатической циркуляции.

I. N. Alekseeva

THE ROLE OF PROTEIN SYNTHESIS IN BILE SECRETION VARIATION UNDER ANTIHEPATIC ANTIBODY EFFECT

Summary

Experiments with rats show that a five-time application of antihepatocytotoxic serum (AHCS) in high doses (6 mg of protein in a γ -globulin fraction per 100 g of body mass) induces a decrease in the bile secretion level, reduction of intensity of ^{14}C -protein hydrolysate incorporation into total liver proteins and a fall of the Na^+ , K^+ -ATPase activity in the fraction of canalicular plasmatic hepatocyte membranes. A three-time application of low AHCS doses ($6 \cdot 10^{-5}$ mg of protein in a γ -globulin fraction per 100 g of body mass) against the liver affection with carbon tetrachloride induces on the 3d day an increase in the bile secretion level, in the intensity of ^{14}C -protein hydrolysate incorpo-

ration into the liver proteins and plasmatic hepatocyte membranes inhibitor, 5 hrs before bile collection +AHCS decreases bile secretion

A. A. Bogomoletz Institute of Phys. Academy of Sciences, Ukrainian S.

1. Алексеева И. Н. Зміни білків і печінки шурів під впливом АГЦС. — Фізіол журн., 1968, 14.
2. Алексеева И. Н. Зміни вмісту крові шурів при введенні м. гострого ураження печінки ч. 45, № 3, с. 254—257.
3. Алексеева И. Н. Жовчовиділь малих доз антигепатотокс. с. 602—607.
4. Бойков П. Я., Сидоренко Л. І. ших животных. Активация с. пульсного торможения транс. с. 963—974.
5. Галенко Т. И. Исследование д. тивность ферментов в печени ук. — Киев, 1977.—16 с.
6. Галкин А. П. Особенности ко. геномов продуктами трансляц. д-ра. биол. наук. Киев, 1977.—2.
7. Есипенко Б. Е., Яременко М. (ших уровень желчеотделения. ния: Материалы II Всесоюз. 1971, с. 148—150.
8. Есипенко Б. Е., Воробей А. И. ме желчотока. — Фізіол. журн.,
9. Erlinger S., Dhumeaux D., Ver transport on bile formation in t 423.
10. Erlinger S., Dhumeaux D. Mec electrolytes. — Gastroenterology,
11. Forker E. L. Mechanisms of he N 1, p. 323—347.
12. Lock S., Witschi H., Plaa G. I. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1
13. Reichen J., Paumgartner G. Rel liver plasma membranes enrich p. 429—434.
14. Tauski H. H., Schorr E. A mic anic phosphorus. — J. Biol. Chen
15. Toda G., Oka H., Ikeda Y. Subf on the liver cell surface. — Biocl
16. Wannagat F. J., Adler R. D., O dependent flow and plasma m Clin. Invest., 1978, 61, N 2, p. 297
17. Wheeler H. O. Secretion in bile. 1975, p. 87—110.

Институт физиологии им. А. А. Бог. АН УССР, Киев

CCl₄,

уровня
провели
антибио-
з белка
вне тер-
крысам,
ксимида
до на-
ощиться
уровень
ра жел-
остовер-
ась раз-
их этих
ть осно-

лчатока у
ия малых
CCl₄.
часы), 6 —
ертикали —
— контроль,
— циклогек-

ГПС на
и только
за. Уси-
димому,
у актив-
з у крыс,
(CCl₄ —
ость Na⁺,
иан гепа-
(CCl₄ —

им, что в
гипепато-
елкового
зменение
ГФазы и
энтерог-

ytotoxic se-
l g of body
C-protein
ATPase ac-
time appli-
er 100 g of
the 3d day
ate incorpo-

ration into the liver proteins and a rise in the Na⁺, K⁺-ATPase activity in canalicular plasmatic hepatocyte membranes. Application of cycloheximide, a protein synthesis inhibitor, 5 hrs before bile collection in rats which were administered CCl₄ and CCl₄+AHCS decreases bile secretion levelling its difference in the two groups of animals.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR

Список литературы

1. Алексеева И. Н. Зміни білкового складу та активності трансаміназ сироватки крові і печінки щурів під впливом великих доз антигепатоцитотоксичної сироватки та АПС.— *Фізіол. журн.*, 1968, 14, № 6, с. 774—779.
2. Алексеева И. Н. Зміни вмісту білка і активності трансаміназ в печінці і сироватці крові щурів при введенні малих доз антигепатоцитотоксичної сироватки на фоні гострого ураження печінки чотирьохлористим вуглецем.— *Укр. біохім. журн.*, 1973, 45, № 3, с. 254—257.
3. Алексеева И. Н. Жовчовидільна функція печінки в умовах застосування великих і малих доз антигепатоцитотоксичної сироватки.— *Фізіол. журн.*, 1974, 22, № 5, с. 602—607.
4. Бойков П. Я., Сидоренко Л. И., Тидоров И. Н. Биогенез хроматина в клетках высших животных. Активация синтеза ядерных белков и ДНК гепатоцитов после импульсного торможения трансляции циклогексимидом.— *Биохимия*, 1979, 44, вып. 6, с. 963—974.
5. Галенко Т. И. Исследование действия антигепатоцитотоксической сыворотки на активность ферментов в печени и сыворотке крови: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Киев, 1977.—16 с.
6. Галкин А. П. Особенности контроля транскрипции ядерного и митохондриального геномов продуктами трансляции цитоплазмы у высших животных. Автореф. дис. ... д-ра. биол. наук. Киев, 1977.—31 с.
7. Есипенко Б. Е., Яременко М. С., Костромина А. П. и др. О механизмах, определяющих уровень желчеотделения.— В кн.: Физиология и патология органов пищеварения: Материалы II Всесоюз. конф. по физиологии и патологии пищеварения. М., 1971, с. 148—150.
8. Есипенко Б. Е., Воробей А. И., Костромина А. П. и др. О роли натрия в механизме желчотока.— *Физиол. журн.*, 1981, 27, № 1, с. 72—76.
9. Erlinger S., Dhumeaux D., Berthelot P., Dumont M. Effect of inhibitors of sodium transport on bile formation in the rabbit.— *Amer. J. Physiol.*, 1972, 219, N 2, p. 416—423.
10. Erlinger S., Dhumeaux D. Mechanisms and control of secretion of bile water and electrolytes.— *Gastroenterology*, 1974, 66, N 2, p. 281—304.
11. Forker E. L. Mechanisms of hepatic bile formation.— *Amer. Rev. Physiol.*, 1977, 39, N 1, p. 323—347.
12. Lock S., Witschi H., Plaa G. L. The effect of cycloheximide on bile flow in rats.— *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1979, 161, N 3, p. 546—553.
13. Reichen J., Paumgartner G. Relationship between bile flow and Na⁺, K⁺-ATPase in liver plasma membranes enriched in bile canaliculi.— *J. Clin. Invest.*, 1977, 60, N 2, p. 429—434.
14. Tausski H. H., Schorr E. A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus.— *J. Biol. Chem.*, 1953, 202, N 2, p. 675—685.
15. Toda G., Oka H., Ikeda Y. Subfraction of rat liver plasma membrane-bound enzymes on the liver cell surface.— *Biochim. et biophys. acta*, 1975, 413, N 1, p. 52—64.
16. Wannagat F. J., Adler R. D., Ockner R. K. Bile acid-induced increase in bile acid-independent flow and plasma membrane Na⁺, K⁺-ATPase activity in rat liver.— *J. Clin. Invest.*, 1978, 61, N 2, p. 297—307.
17. Wheeler H. O. Secretion in bile.— In: Diseases of the liver. Philadelphia: Lippincott, 1975, p. 87—110.

Институт физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
25.III 1981 г.

УДК 612.438:4.612.119.41

В. А. Малышев

АВТОРАДИОГРАФИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИМФОЦИТОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ФАКТОРА ТИМУСА — ЛСВ

При изучении биологических свойств низкомолекулярного лимфоцитостимулирующего вещества тимуса (ЛСВ) было установлено, что введение этого препарата мышам вызывает увеличение количества лимфоцитов в периферической крови. Одновременно возрастает вес селезенки и усиливается синтез нуклеиновых кислот в лимфоидных тканях [4]. В системе *in vitro* лимфоциты под влиянием ЛСВ трансформируются в способные к митозу бластные клетки. При этом В-лимфоциты не чувствительны к митогенному действию препарата. На основании этих фактов сделано заключение, что низкомолекулярный гуморальный фактор тимуса специфически активизирует пролиферацию тимусзависимых лимфоцитов [5]. В связи с необходимостью дальнейшей аргументации этого вывода возник вопрос, обусловлена ли стимуляция лимфоцитопоза *in vivo* также образованием Т-лимфоцитов.

В данной работе представлены результаты исследования лимфоцитотропного эффекта ЛСВ с использованием метода авторадиографии, позволившего локализовать распределение очагов лимфоцитопоза среди различных структур лимфоидных тканей.

Методика исследований

Опыты проводили на мышах-самцах линии СВА возрастом 3 мес. ЛСВ выделяли из зобных желез телят по способу, описанному ранее [1]. Количество препарата определяли в условных миллиграммах бычьего сывороточного альбумина по Лоури. Вводили его животным внутривентрально в различных дозировках один раз в день на протяжении 3 сут.

Для проведения радиоавтографического исследования использовали специфический предшественник ДНК — тимидин, меченный по третию (³H-тимидин), инъецированный внутривентрально из расчета 1 мКи/г. Объектами изучения служили тимус, селезенка и лимфатические узлы (подмышечные). Подсчет количества меченных лимфоцитов и относительное измерение их радиоактивности по числу зерен серебра проводили на мазках, которые готовили из клеточных суспензий. Мазки фиксировали в метаноле и сушили на воздухе. Часть органа фиксировали в формалине, и из нее готовили гистологические срезы. Готовые препараты, а также мазки обрабатывали 3% раствором хлорной кислоты при 4°C в течение 20 мин, промывали около часа проточной водой и высушивали. Сухие препараты покрывали фотоземлемой методом погружения стекла в жидкую эмульсию без применения желатинового подслоя [3]. Для приготовления авторадиограмм использовали мелкозернистую эмульсию типа М. Срезы и мазки экспонировали в темноте при 4°C в течение 7 нед. Проявляли автографы амидоловым проявителем [2]. Высушенные препараты окрашивали гематоксилин-эозином.

Результаты исследований и их обсуждение

Первоначально опыты проводили на мышах, которым вводили 0,1 и 1,0 мг ЛСВ в течение трех дней. Контрольные животные получали физиологический раствор. Спустя 23 ч после последней инъекции ЛСВ мышам вводили ³H-тимидин. Через час после этого животных декапировали.

Результаты подсчета числа меченных клеток в лимфоидных органах подопытных и контрольных мышей представлены в табл. 1. У животных, которые получали физиологический раствор, меченные клетки распределялись следующим образом: селезенка — $3,9 \pm 0,2\%$, лимфоузлы — $0,79 \pm 0,1\%$ и тимус — $4,5 \pm 0,2\%$.

При введении мыши цитов достоверно увели ганах. Число меченных повышается еще более. Одновременно наблюдае нально вводимой дозе п тина. Небольшая концен и содержания меченных муса уменьшается, а кс 62 % нормы.

Влияние различных доз ЛСВ

Экспериментальная группа	Количество мышей	Вес кн ве
Контроль (введение физиологического раствора)	7	34,
Введение ЛСВ в дозе:		
0,1 мг	6	40,
1,0 мг	7	53,
p_1		<
p_2		<
p_3		<

Примечание. p_1 — достоверно
 p_2 — достоверность различий между
личий между дозой ЛСВ 0,1 и

При анализе автографическое. В селезенке кон ются в герминативных це большом количестве в ос получали 0,1 мг ЛСВ, м пульпе селезенки, особен 1,0 мг метка обнаружива пульпе.

В лимфоузлах интак лагаются они диффузно п в этих образованиях в сл использовании 1,0 мг пр тает, особенно в паракор

В тимусе контрольны ченных клеток в корковом в мозговой слой. Количес чае введения небольшой д ся в областях мозгового ные получают большую д становится больше, чем в слое меченные клетки зап лагаются вокруг кровенос ны и в просвете сосудов м

В следующей серии включения ³H-тимидина в получивших 1,0 мг ЛСВ. I трех суток. Сразу же посл

При введении мышам 0,1 мг ЛСВ количество меченных лимфоцитов достоверно увеличивается во всех изучаемых лимфоидных органах. Число меченных лимфоидных клеток в селезенке и лимфоузлах повышается еще более значительно при использовании 1,0 мг ЛСВ. Одновременно наблюдается и увеличение веса селезенки, пропорционально вводимой дозе препарата. В тимусе же наблюдается иная картина. Небольшая концентрация ЛСВ вызывает увеличение и его веса, и содержания меченных тимоцитов. После введения 1,0 мг ЛСВ вес тимуса уменьшается, а количество меченных клеток составляет лишь 62 % нормы.

Таблица 1

Влияние различных доз ЛСВ на включение ^3H -тимидина в лимфоциты мышей СВА

Экспериментальная группа	Количество мышей	Вес селезенки на 10 г веса тела (мг)	Вес тимуса на 10 г веса тела (мг)	% меченных лимфоцитов		
				Селезенка	Лимфоузлы	Тимус
Контроль (введение физиологического раствора)	7	34,2±3,0	7,7±0,6	3,9±0,2	0,79±0,1	4,5±0,2
Введение ЛСВ в дозе:						
0,1 мг	6	40,8±1,3	11,1±0,3	4,9±0,2	1,3±0,05	7,6±0,4
1,0 мг	7	53,7±2,4	6,6±0,1	8,1±0,3	1,8±0,1	2,8±0,1
p_1		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
p_2		<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
p_3		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Примечание. p_1 —достоверность различий между контролем и дозой ЛСВ 0,1 мг p_2 —достоверность различий между контролем и дозой ЛСВ 1,0 мг p_3 —достоверность различий между дозой ЛСВ 0,1 и 1,0 мг.

При анализе автографов гистологических срезов обнаружено следующее. В селезенке контрольных мышей меченные клетки располагаются в герминативных центрах мальпигиевых телец и диффузно в небольшом количестве в остальных частях органа. У животных, которые получали 0,1 мг ЛСВ, много меченных клеток появляется в красной пульпе селезенки, особенно вокруг фолликулов. При дозе препарата 1,0 мг метка обнаруживается и вокруг центральных артериол в белой пульпе.

В лимфоузлах интактных мышей меченных клеток мало, и располагаются они диффузно по всему срезу. Характер распределения метки в этих образованиях в случае введения 0,1 мг ЛСВ не меняется. При использовании 1,0 мг препарата количество меченных клеток возрастает, особенно в паракортикальных областях лимфоузлов.

В тимусе контрольных мышей отмечается большое количество меченных клеток в корковом слое и в клеточных тяжах, идущих из коры в мозговой слой. Количество их в коре несколько уменьшается в случае введения небольшой дозы ЛСВ, но при этом заметно увеличивается в областях мозгового слоя, примыкающих к коре. Если же животные получают большую дозу препарата, меченных тимоцитов в коре становится больше, чем в предыдущей группе. При этом в мозговом слое меченные клетки заполняют обширные области. Последние располагаются вокруг кровеносных сосудов. Местами меченные клетки видны и в просвете сосудов мозгового слоя.

В следующей серии экспериментов проведено изучение кинетики включения ^3H -тимидина в лимфоциты тимуса и селезенки мышей СВА, получивших 1,0 мг ЛСВ. Препарат вводили один раз в день в течение трех суток. Сразу же после первой инъекции ЛСВ части мышам ввели

имфоци-
но, что
личества
гает вес
фондных
В транс-
и В-лим-
. На ос-
улярный
ферацию
дальней-
ли сти-
фоцитов.
тимфоци-
юграфии,
озза сре-

3 выделяли
арата опре-
лоури. Вво-
ень на про-

цифический
цированный
имус, селе-
х лимфоци-
проводили
в метаноле
готовили гис-
раствором
ной водой и
ния стекла в
овления ав-
газки экспо-
новым проя-

водили 0,1
получали
кции ЛСВ
ях декапи-

дных орга-
1. У жи-
ные клетки
2 %, лим-

^3H -тимидин, и половину из них через час после этого декапитировали. Вторую половину животных исследовали через 24 ч после введения меченного тимидина. Такую процедуру повторяли после второй и третьей инъекций ЛСВ. Контрольным мышам вводили физиологический раствор. У декапитированных животных извлекали селезенку и тимус, из которых готовили мазки клеточных суспензий. В готовых автографах подсчитывали число меченных клеток, количество зерен серебра и митотический индекс.

Таблица 2
Изменение процента меченных ^3H -тимидином лимфоцитов в селезенке и тимусе мышей СВА в различные сроки после введения ЛСВ

Условия эксперимента	Группа	Количество мышей	Время после введения ^3H -тимидина, час	% меченных лимфоцитов после следующих инъекций ЛСВ (кратность)					
				Селезенка			Тимус		
				1	2	3	1	2	3
Контроль (введение физиологического раствора)	I	9	1	5,2±0,2	3,7±0,2	4,0±0,3	4,5±0,3	5,1±0,3	5,2±0,2
	II	12	24	3,8±0,8	3,1±0,3	3,7±0,2	2,5±0,2	1,5±0,1	1,5±0,1
	III	9	1	5,1±0,15	15,3±0,2	9,2±0,1	4,1±0,4	1,7±0,01	6,3±0,3
	IV	12	24	5,0±0,4	7,7±0,2	11,2±0,3	8,7±0,6	1,3±0,02	1,9±0,1
Опыт (введение ЛСВ, 1,0 мг×3)									
	p_1			>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	p_2			>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05
	p_3			>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05
	p_4			>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05

Примечание. p_1 —достоверность различий между I и II группами, p_2 —IV и III группами, p_3 —III и I группами, p_4 —IV и II группами.

По данным, представленным в табл. 2, можно видеть, что через 1 ч после первого введения ЛСВ процент меченных клеток в селезенке и тимусе такой же, как и у контрольных животных. При этом в контроле он почти не меняется на протяжении всего опыта. Что же касается мышей, которые получали ЛСВ, то число меченных клеток в лимфоидных органах достоверно отличается от контрольных величин, особенно в селезенке после второй и третьей инъекций препарата. Количество клеток, имеющих метку, увеличено против нормы в 4,1 и 2,3 раза соответственно. В тимусе эти показатели носят несколько иной характер. После второй инъекции ЛСВ процент помечившихся клеток резко падает и составляет лишь четвертую часть от нормы. Однако после третьего введения препарата количество таких лимфоцитов возрастает и становится достоверно выше чем у контрольных мышей.

По сравнению с одночасовой экспозицией число меченных лимфоцитов в селезенке контрольных животных через 24 ч после введения ^3H -тимидина несколько, хотя и недостоверно, ниже. У подопытных мышей процент помечившихся спленоцитов в этом случае также снижается, однако только после первых двух инъекций ЛСВ. После третьего введения препарата их содержание значимо выше, чем через час после инъекции ^3H -тимидина. Следует также отметить, что общее содержание меченных лимфоцитов после 24 ч экспозиции в селезенке подопытных мышей выше, чем у контрольных, особенно после второго и третьего введений ЛСВ.

Как видно из табл. 2, чешский раствор, через 24 ч ных клеток достоверно ни. Причем, такая ситуация на та. Аналогичные данные по го и третьего введений ЛС та число меченных тимоц выше более чем в два раза.

Изменение числа зерен сел митозов в тимусе и селезенке

Исследуемый орган	Условия эксперимента
Тимус	Контроль (введение физраствора)
	Опыт (введение ЛСВ)
Селезенка	Контроль (введение физраствора)
	Опыт (введение ЛСВ)

Примечание. каждая величина

В табл. 3 приведены д лимфобластов и малых л этих клеточных форм и вел мых органах.

В тимусе контрольных лимфоцитов и бластов на в тельно. Через час после в только бластные клетки, и ка обнаруживается только серебра над ядром по срав шается более чем наполови количество помечившихся м индекс в тимусе за время н ния по дням исследования н

При введении ЛСВ соот тов остается в пределах кон

Как видно из табл. 2, в тимусе животных, получивших физиологический раствор, через 24 ч после введения ^3H -тимидина процент меченых клеток достоверно ниже, чем через час после инъекции изотопа. Причем, такая ситуация наблюдается на всем протяжении эксперимента. Аналогичные данные получены и у подопытных мышей после второго и третьего введений ЛСВ. Однако, после первой инъекции препарата число меченных тимоцитов по сравнению с одночасовым опытом выше более чем в два раза.

Таблица 3
Изменение числа зерен серебра над мечеными лимфоцитами и содержание митозов в тимусе и селезенке мышей в различные сроки после введения ЛСВ

Исследуемый орган	Условия эксперимента	Кратность введения	Время после введения ^3H -тимидина, час	Бластные клетки			Лимфоциты		Митотический индекс, ‰
				Относительное содержание, ‰	Процент меченных бластов	Число зерен серебра над одним ядром	Относительное содержание, ‰	Процент меченных клеток	
Тимус	Контроль (введение физраствора)	1	1	10,1	45,2	28,6	86,1	0,6	4,5
			24	11,2	10,2	10,3	86,3	2,4	3,7
		2	1	9,6	50,0	26,4	90,0	0,4	4,6
			24	10,2	8,1	14,3	87,1	1,8	4,1
		3	1	11,0	43,0	29,0	88,2	0,3	5,0
			24	10,7	9,1	11,8	86,1	1,6	3,9
	Опыт (введение ЛСВ)	1	1	9,1	46,2	27,3	88,7	0,5	4,8
			24	12,2	12,0	6,8	85,3	5,8	8,0
		2	1	11,3	10,0	18,4	86,2	0,3	3,2
			24	12,3	3,2	8,4	85,3	1,2	2,2
		3	1	13,0	55,0	25,7	84,2	0,1	6,4
			24	10,4	11,2	9,6	86,8	1,5	2,0
Селезенка	Контроль (введение физраствора)	1	1	1,9	82,3	30,2	76,3	4,2	5,2
			24	1,7	52,0	14,1	78,4	5,0	3,8
		2	1	1,6	70,5	29,0	73,0	3,0	3,7
			24	1,8	35,7	11,3	77,2	6,1	3,2
		3	1	2,0	73,4	28,1	72,8	2,4	4,1
			24	1,9	40,0	13,3	74,3	6,3	4,2
	Опыт (введение ЛСВ)	1	1	2,0	80,5	38,4	75,0	3,1	4,9
			24	6,3	21,4	12,1	78,0	5,2	9,0
		2	1	9,2	82,4	32,5	76,0	6,5	12,3
			24	6,1	20,3	10,3	74,0	7,1	8,2
		3	1	7,4	76,0	39,4	80,1	4,2	9,1
			24	8,3	17,2	11,8	77,3	9,0	6,4

Примечание. каждая величина—средняя 3-4 мышей.

В табл. 3 приведены данные о содержании в тимусе и селезенке лимфобластов и малых лимфоцитов, о распределении метки среди этих клеточных форм и величине митотического индекса [6] в изучаемых органах.

В тимусе контрольных животных относительное содержание малых лимфоцитов и бластов на всем протяжении опыта колеблется незначительно. Через час после введения ^3H -тимидина метятся практически только бластные клетки, и то лишь 43—50 % из них. Спустя 24 ч метка обнаруживается только в 8—10 % бластов. При этом число зерен серебра над ядром по сравнению в одночасовой экспозицией уменьшается более чем наполовину. Одновременно в тимусе увеличивается количество помечившихся малых лимфоцитов. Средний митотический индекс в тимусе за время наблюдения составлял 4,3 ‰ и его отклонения по дням исследования незначительны.

При введении ЛСВ соотношение бластных и зрелых форм тимоцитов остается в пределах контрольных величин, хотя и имеется некото-

рая тенденция к увеличению процентного содержания лимфобластов. Обращает на себя внимание достоверное увеличение ($p < 0,05$) митотической активности в тимусе, которая носит выраженный фазовый характер. Практически максимум числа митозов наблюдался через каждые 24 ч после начала введения ЛСВ. При этом подъемы митотической активности чередуются с явными ее падениями. Характер распределения радиоактивной метки среди лимфоидных клеток тимуса напоминает таковой у контрольных мышей. Однако, в отличие от последних, сразу же после второй инъекции ЛСВ метится значительно меньшее количество бластных клеток. Кроме того, через 24 ч после первого введения ^3H -тимидина в тимусе подопытных животных по сравнению с контролем насчитывается более чем в два раза больше меченных малых лимфоцитов.

Из табл. 3 также следует, что в селезенке контрольных мышей содержится значительно меньше бластных клеток, чем в тимусе. Несомненно меньше в этом органе и процентное содержание лимфоцитов. Через 1 ч после введения ^3H -тимидина метка обнаруживается в 70—80 % бластов и в 2—4 % лимфоцитов. В последнем случае метятся преимущественно большие лимфоциты. Число зерен серебра над ядрами бластов через 24 ч после введения изотопа уменьшается в среднем более чем в два раза, а количество меченных лимфоцитов в эти сроки увеличивается. Средний митотический индекс 4‰ практически остается на одном уровне на протяжении всего срока эксперимента.

У мышей, которым вводили ЛСВ, в селезенке насчитывается в 3—4 раза больше бластов, чем в контроле. Значительно возрастает и митотическая активность. Средний митотический индекс составляет в опыте 9‰ (первый показатель как фоновый в расчет не принимался). При этом митотическая активность, в отличие от наблюдаемой в тимусе, не проявляет выраженного фазового характера. Однако, и в этом случае наибольшее число митозов насчитывается через каждые 24 ч после начала введения ЛСВ. Как и в контроле, через 1 ч после инъекции ^3H -тимидина мечеными становятся в основном бластные клетки, а через 24 ч возрастает доля меченных лимфоцитов. В последнем случае имеет место и видимое снижение числа зерен серебра над ядрами бластов.

Анализируя результаты описанных экспериментов, мы руководствовались следующим. Известно, что начальный индекс метки через 1 ч после введения ^3H -тимидина отражает процент клеток, которые находятся в состоянии синтеза ДНК во время инъекции изотопа. Учитывая тот факт, что весь тимидин включается очень быстро, а продукты его распада выводятся из организма в течение 1 ч [12], количество меченных клеток и содержание в них меченного изотопа через 24 ч являются следствием тех изменений, которые претерпевают клетки в течение суток.

У взрослых мышей тимус имеет постоянный вес, который обеспечивается за счет существования определенного равновесия между уровнем образования тимоцитов, их гибелью и миграцией клеток на периферию. Причем пролиферативный и непролиферативный клеточные компартменты этого органа состоят из бластных клеток и малых лимфоцитов. Установлено, что около 45 % малых тимоцитов представляют собой генеративный пул, тогда как остальные 55 % этих клеток подвергаются постоянной эмиграции из тимуса. Из бластных клеток также не все составляют пролиферативный компартмент, часть из них не оканчивает клеточный цикл, и около 20 % тимических бластных клеток погибают [7].

Из приведенных в этой работе данных видно, что в результате трехразового введения ЛСВ у подопытных мышей существенно изменяется вес тимуса и содержание клеток, находящихся в S-фазе митотического цикла (см. табл. 1). Малая доза препарата вызывает увеличение

веса этого органа и одноварирующих клеток. Эти результаты подтверждают, что малая доза ЛСВ в тимусе. При применении б картина — заметно снижает меченных ^3H -тимидином лимфоидных клеток. Это место значительная стимуляция результатов изучения сроков после введения меченных ^3H -тимидина бластных клеток клеточный цикл и дает преимущественное обилие меченных спустя 24 ч после митотического индекса при пролиферативных процессах в лимфоидной популяции в целом. В результате мы не обнаружили митозов или увеличения числа лимфоцитов.

Снижение веса тимуса свидетельствует, по-видимому, об истощении тимуса. Показано, что введение ^3H -тимидина в тимус, особенно в ее наружную часть коры, а также факт одновременного введения изотопов в тимус и в мозг. В наших опытах при введении изотопов в тимус и в мозг увеличивается в областях митотической активности при применении большей дозы изотопов, т. е. на путях миграции тимоцитов, тогда как при фазе деления клеток, побуждающей к делению. Этим и объясняется повышение индекса деления ЛСВ на вес тимуса. Справедливо, если учесть, что тимус является транзитной популяцией, за счет самоподдерживающейся. Превращение же последней в период, так как потомки становятся только через 7—10 дней [12].

Результаты исследования тимуса несколько сложнее, поскольку орган не только лимфоидного кроветворения. Кроме того, представляют собой гетерогенную популяцию. В противоположность тимусу, в котором нарастание веса тимуса соответствует увеличению веса тимуса. При этом, так же как и при пролиферации бластных клеток, увеличивается число меченных лимфоидных клеток. На авторадиограммах при введении 0,1 мг ЛСВ в тимус и перифолликулярный тимус тимуса — и в окрестностях тимуса.

бластов. митотический характер каждой предельно их, сразу количественного введения контрольных лим-

мышей тимуса. Нейтрофилов в 70-метаются ад ядра-среднем и сроки не остаются.

в 3-лет и мигрирует в опытных). В тимусе в этот день 24 ч после инъекции клетки, днем сдвинуто ядрами

руководки через горные на-а. Учитывают продукты метаболитов 24 ч являющиеся в течение

обеспечивают между уровнем на периферических клеточных лимфоцитах лимфоцитов под воздействием также из них не только клеток

в течение трех-изменяется митотическое увеличение

веса этого органа и одновременно способствует накоплению пролиферирующих клеток. Эти результаты однозначно свидетельствуют о том, что малая доза ЛСВ стимулирует пролиферативные процессы в тимусе. При применении большей дозы препарата наблюдается иная картина — заметно снижается вес тимуса и уменьшается количество меченных ^3H -тимидином лимфоцитов. Однако, и в этом случае имеет место значительная стимуляция тимопоэза. Об этом свидетельствуют результаты изучения числа пролиферирующих клеток в различные сроки после введения большой дозы ЛСВ. Установлено, что включающие ^3H -тимидин бластные клетки в основной своей массе заканчивают клеточный цикл и делятся на малые лимфоциты. На это указывает преимущественное обнаружение разбавленной метки в малых тимопоэзах спустя 24 ч после введения изотопа. Значительное увеличение митотического индекса при этом также свидетельствует об ускорении пролиферативных процессов в тимусе и об ускорении обновления клеточной популяции в целом. Следует отметить, что ни в одном из случаев мы не обнаружили морфологических признаков разрушения желез или увеличения числа гибнущих тимопоэзов.

Снижение веса тимуса при применении большой дозы ЛСВ свидетельствует, по-видимому, об ускорении миграции стимулированных клеток из тимуса. Показано, что в нормальных условиях после однократного введения ^3H -тимидина меченные клетки вначале видны в коре тимуса, особенно в ее наружной зоне. Затем метка определяется во внутренней части коры, а через 24 ч — и в мозговом веществе [8]. Этот факт одновременного появления меченных тимопоэзов в различных отделах тимуса рассматривается как свидетельство миграции клеток из коры в мозговое вещество, откуда они могут попадать в кровоток. В наших опытах при введении 0,1 мг ЛСВ число меченных клеток увеличивается в областях мозгового слоя, примыкающих к коре, а при применении большей дозы препарата — в глубоких зонах мозгового вещества, т. е. на путях миграции тимических клеток. Исходя из этого, можно думать, что малая доза ЛСВ преимущественно стимулирует тимопоэз при относительно небольшой активации процесса миграции тимопоэзов, тогда как большая доза препарата, активируя пролиферацию клеток, побуждает значительное ускорение миграции тимопоэзов. Этим и объясняется разнонаправленное действие различных доз ЛСВ на вес тимуса. Справедливость этого вывода становится очевидной, если учесть, что тимус содержит преимущественно клетки делящейся транзитной популяции и нуждается в непрерывном пополнении за счет самоподдерживающейся популяции стволовых клеток [6, 10]. Превращение же последней в первую требует определенный латентный период, так как потомки стволовых клеток могут определяться в тимусе только через 7—10 дней [9].

Результаты исследования селезенки в нашем случае интерпретировать несколько сложнее, поскольку этот орган у мышей функционирует как орган не только лимфоидного, но и миелоидного, а также эритроидного кроветворения. Кроме того, сами лимфоциты селезенки представляют собой гетерогенную популяцию, состоящую из Т- и В-клеток. В противоположность тимусу, при введении ЛСВ отмечается параллелизм между нарастанием веса селезенки и вводимой дозой препарата. Соответственно увеличивается и процент меченных ^3H -тимидином клеток. При этом, так же как и в тимусе, в селезенке отмечается усиление пролиферации бластных клеток, о чем свидетельствуют заметное увеличение числа меченных малых лимфоцитов, содержащих разбавленную количество зерен серебра, и усиление митотической активности лимфоидных клеток. На автографах срезов селезенки меченные клетки при введении 0,1 мг ЛСВ определяются преимущественно в красной пульпе и перифолликулярных пространствах, а при применении большей дозы препарата — и вокруг центральных артериол в белой пульпе.

Последняя область — это типично тимусзависимая область селезенки, содержащая Т-лимфоциты. Что же касается красной пульпы, то, хотя она и состоит из гетерогенной популяции клеток, через нее может происходить миграция тимоцитов [11]. Отсюда, результаты приведенных опытов следует, на наш взгляд, рассматривать как признак того, что и в селезенке под влиянием ЛСВ стимулируется пролиферация Т-лимфоцитов. При этом не исключено, что активации подвержены как Т-клетки, находящиеся уже в селезенке, так и Т-клетки, мигрировавшие в этот орган под воздействием ЛСВ из тимуса.

Данные наших экспериментов свидетельствуют также о том, что не все делящиеся клетки селезенки остаются на месте. В противном случае следовало бы ожидать более значительного прироста меченных лимфоцитов в селезенке после каждого введения ЛСВ. По-видимому, некоторые клетки покидают селезенку и становятся достоянием рециркулирующего пула лимфоцитов. Во всяком случае, увеличение числа периферических лимфоидных клеток у мышей после введения ЛСВ [4] не исключает такой возможности. Обнаружение увеличенного количества меченных клеток в тимусзависимых областях лимфоузлов также подтверждает тот факт, что ЛСВ специфически стимулирует активацию и миграцию Т-лимфоцитов.

Таким образом, результаты приведенных исследований свидетельствуют о том, что ЛСВ принимает активное участие в регуляции процессов физиологической регенерации тимусзависимой популяции лимфоидных клеток как в самом тимусе, так и во вторичных лимфоидных органах. Эта регенерация включает продолжительность клеточного цикла Т-лимфоцитов, их дифференцирование и миграцию.

Список литературы

1. Безвершенко І. А., Бойко М. Г., Лукашова Р. Г., Малижев В. О. Фізикохімічні властивості лімфотропного чинника тимуса.— Укр. біохім. журн., 1974, 46, № 3, с. 358—363.
2. Богомолов К. С., Дебердеев М. Ю., Сиротинская А. А., Уварова В. М. Фотоматериалы для микроавтордиографии типа МР и МК.— Тр. Всесоюз. Кинофотонститута, 1957, вып. 11 (21), с. 87—93.
3. Епифанова О. И., Терских В. В. Метод радиоавтордиографии в изучении клеточных циклов.— М.: Наука, 1969.—119 с.
4. Малыжев В. А. Стимуляция лимфоцитопоза у мышей низкомолекулярным гуморальным фактором тимуса — ЛСВ.— Патол. физиология и эксперим. терапия, 1977, № 3, с. 49—53.
5. Малыжев В. А., Глотова Т. В. Бласттрансформация лимфоцитов селезенки мышей под влиянием низкомолекулярного гуморального фактора тимуса *in vitro*.— Цитология, 1975, 17, № 9, с. 1062—1066.
6. Харлова Г. В. Регенерация лимфоидных органов у млекопитающих.— М.: Медицина, 1975.—174 с.
7. Claesson M. H., Hartmann N. R. Cytodynamics in the thymus of young adult mice: A quantitative study on the loss of thymic blast cells and non-proliferative small thymocytes.— Cell and Tissue Kinet., 1976, 9, N 3, p. 273—291.
8. Hinrichsen K. Zellteilungen und Zellwanderungen im Thymus der erwachsenen Mäuse.— Z. Zellforsch., 1965, 68, N 4, S. 427—444.
9. Kadish J. L., Basch R. S. Hematopoietic thymocyte precursors. 1. Assay and kinetics of the appearance of progeny.— J. Exp. Med., 1976, 143, N 5, p. 1082—1099.
10. Lajtha L. Proliferation kinetics of steady state cell populations.— In: Control of cellular growth in adult organisms. London; New York, 1967, p. 97—106.
11. Parrott D. V., de Sousa M., East J. Thymus-dependent areas in the lymphoid organs of neonatally thymectomized mice.— J. Exp. Med., 1966, 123, N 1, p. 191—204.
12. Potter R. L., Nygaard O. F. The conversion of thymidine to thymine nucleotides and deoxyribonucleic acid *in vivo*.— J. Biol. Chem., 1963, 238, N 6, p. 2150—2155.

Лаборатория эндокринной регуляции иммуногенеза
Киевского института эндокринологии и обмена веществ

Поступила в редакцию
26.V 1981 г.

УДК 636.082.453.5:612.017.1

И. И. Соколовская

МИШЕНИ ДЕЙСТВИЯ И ЖИВЧИКА

На количество и качество сперматозоидов, оказывающих влияние на оплодотворение, оказывают влияние травмы, охлаждение семенников, самцов синтеза специфических компонентов [7, 12, 16].

Для выявления самцов аутоантитела, разработан спонтанный или искусственный аутоантителом является нарушением осеменения.

Исследованиями в области физиологии установлено, что основная мишень действия аутоантитела — эпителий на разных стадиях развития.

Искусственное осеменение самцов аутоиммунными ядами, сравнение с контролем, числа поступательно под влиянием аутоантитела.

Так, было установлено, что аутоантитела (акция оседания живчиков) и титры были ниже на статистическом уровне осеменения быков.

Плазма семени также [15] и способна вызвать аутоиммунную реакцию. Однако опыты показали, что в оплодотворении эпидидимальной плазмы семени ограничивающей фактором является визуализация их движений, участка эпидидимиса [8]. В результате действия обволакивающих собственных антигенов жидкой фазы обволакивающий фактор капацитации в половом пути самки в непосредственно на объем действия резко отрицательно влияет на оплодотворение самцов семени биологическую полноценность.

Мы изучали сравнительно с целью выявления компонентов семени кролика.

УДК 636.082.453.5:612.017.1

И. И. Соколовская, А. И. Абилов, Р. Н. Ойвадис, Т. А. Таг

МИШЕНИ ДЕЙСТВИЯ АУТОАНТИТЕЛ К СЕМЕННОЙ ПЛАЗМЕ И ЖИВЧИКАМ ПОСЛЕ АУТОИММУНИЗАЦИИ КРОЛИКОВ-САМЦОВ

На количество и качество семени, выделяемого в эякулятах самцов, оказывают влияние многие факторы, особое место среди которых занимают травмы, воспалительные процессы, перегрев либо переохлаждение семенников, что приводит к возникновению в организме самцов синтеза специфических аутоантител к семени и его отдельным компонентам [7, 12, 16].

Для выявления самцов, у которых самопроизвольно возникают аутоантитела, разработано несколько методов [2, 3, 6, 17]. Последствием спонтанной или нарочито вызванной аутоиммунизации живчиками является нарушение сперматогенеза и ухудшение результативности осеменения.

Исследованиями в электронном и в световом микроскопе показано, что основная мишень действия аутоантител — клетки сперматогенного эпителия на разных стадиях сперматогенеза [5, 7, 10].

Искусственное осеменение коров семенем быков, у которых обнаружены аутоиммунные явления, приводит к ухудшению результатов по сравнению с контролем, несмотря на наличие в эякулятах достаточного числа поступательно подвижных живчиков.

Так, было установлено, что при положительной РОС-реакции (реакция оседания живчиков в аутосыворотке крови самцов в присутствии комплемента) и титрах 1:4—1:8 результат осеменения 3331 коровы был ниже на статистически достоверную величину по сравнению с итогом осеменения быками с отрицательной РОС [6].

Плазма семени также обладает сильным антигенным действием [15] и способна вызвать на себя антитела в результате иммунизации. Однако опыты показали, что секреты добавочных половых желез не участвуют в оплодотворении, которое осуществляется успешно после осеменения эпидидимальными живчиками. Биологическое значение плазмы семени ограничивается тем, что она представляет собой среду, которая способствует выделению живчиков в эякулят, а также активизации их движений, подавленных слабо кислой средой каудального участка эпидидимиса [8]. Высказано также предположение о маскирующем действии обволакивающих антигенов, что сохраняет до поры собственные антигены живчиков, участвующие в оплодотворении; нейтрализация обволакивающих антигенов в половых путях самок — важный фактор капацитации [9]. (Капацитация, как описано, происходит в половом пути самки в процессе миграции живчиков в яйцеводы [13]). Непосредственно на объединение гамет (вне организма) семенная плазма действует резко отрицательно [14]. Есть основания полагать, что иммунизация самцов семенной плазмой должна бы отразиться на функции добавочных половых желез, снижая объем семени, но не влияя на биологическую полноценность живчиков и на результат осеменения.

Мы изучали сравнительное действие ало- и ауто-иммунизации самцов с целью выявления иных мишеней действия антител к отдельным компонентам семени кроме семенного эпителия извитых канальцев.

Методика исследований

От четырех годовалых самцов-кроликов брали семя в искусственную вагину, отделяли посредством центрифугирования плазму семени. Осадок (живчики) промывали трижды забуференным раствором для приготовления экстракта из окончательного осадка. Двух самцов иммунизировали экстрактом их собственных живчиков, двух — плазмой их же семени (аутоиммунизация) и еще двух экстрактом смешанных эякулятов других самцов (аллоиммунизация). Антигены вводили в конъюнктиву глазного века [4]. Через 7 сут после завершения иммунизации у самцов брали кровь для выявления иммунного ответа.

Одному кролику-самцу нанесли одностороннюю травму семенника проколом стерильной иглой в двух местах на глубину 3 мм. Эффективность иммунизации и последствия травмы определяли подсчетом спонтанных розеток в периферической крови: в каждом варианте опыта исследовали по 400 лимфоцитов и вычисляли процент розеткообразующих, то есть присоединивших к себе три и более эритроцита барана [1].

Определяли действие травмы и иммунизации на объем эякулятов, общее число живчиков в них, подвижность, а также сохранность акросом акроскопическим методом [11], подсчитывая по 200 живчиков на препаратах из каждого эякулята. От каждого самца исследовали по семь эякулятов до иммунизации (что служило контролем) и по семь после иммунизации. Для исследования биологической полноценности эякулятов иммунизированных самцов, то есть способности живчиков к оплодотворению, осеменили 25 крольчих для сравнения действия ауто- и аллоиммунизации самцов экстрактом живчиков и 17 крольчих для выяснения действия аутоиммунизации самцов плазмой их семени на результат осеменения. Семенем тех же самцов, взятым от них до иммунизации, осеменили шесть крольчих, что служило контролем. Об итогах судили по числу эмбрионов у убитых самок и по числу живых родившихся крольчат.

Результаты исследований

Сравнительное действие ауто- и аллоиммунизации экстрактом живчиков на качество семени показано в табл. 1, из которой видно, что аутоиммунизация живчиками приводит к заметному иммунному ответу и к ухудшению количества и качества выделенного семени, особенно по общему числу живчиков.

Таблица 1
Изменение процента спонтанных розеток в периферической крови кроликов-самцов и качества эякулятов после ауто- и аллоиммунизации экстрактом живчиков или после травмы семенника

Группы опыта	Э-розетки*	Неповрежденные акросомы, %	Объем эякулята, мл	Общее число живчиков, млн	Подвижность
Аутоиммунизация					
До опыта (контроль)	10±1,5	73	0,7	520	0,8
После опыта	47±2,0	61	0,4	190	0,6
Разница	+37±2,5	-12	-0,3	-330	-0,2
Травма семенника					
До опыта	24±2,1	69	0,5	370	0,8
После опыта (2 нед)	63±1,9	25	0,2	40	0,2
Разница	+39±2,8	-44	-0,3	-310	-0,6
Аллоиммунизация					
До опыта (контроль)	17±1,8	76	0,5	220	0,8
После опыта	49±2,0	61	0,3	130	0,7
Разница	+32±2,7	-15	-0,2	-90	-0,1

* Из 400—600 лимфоцитов по каждой группе ($p < 0,001$).

Еще более пагубно действует аутоиммунизация, вызванная травмой семенника. В эякулятах этой группы обнаружено много деформированных живчиков, у которых повреждена не только акросома, но и другие структуры. Аллоиммунизация живчиками вызвала изменения, аналогичные аутоиммунизации, за исключением общего числа живчиков и их подвижности, которые были изменены незначительно. Эти из-

менения характеристики 2 нед после воздействия более месяца; следовательно могут быть не только в го канальца, что неоднородные живчики из каудальной

Характеристика воспроизводства самцов ауто- или аллоиммунизацией

Самцы	Осеменение самок
До иммунизации	3
После иммунизации ауто	2
алло	2

Изменение числа Э-розеток

Группы	Э-ро
До иммунизации (контроль)	36
Аутоиммунизация	54
Разница	+18

* Из 400 лимфоцитов по каждой

Исследование влияния результата осеменения показывает, что не только на ба оплодотворяемости ооциты, но и действия антител к живчикам, выходящим из ооцитов, на оплодотворение одного самца.

От иммунизации самцов функции добавочных половых желез. Иммунный ответ и качество плазмы их семени показало, что аутоиммунизация плазмой семени снижала (в два раза) подвижность живчиков в эякулятах живчиков, осемененных плазмой на их подвижности. Это снижение было статистически значимым.

Хорошая подвижность живчиков плазмой семени, акросомами позволяли на крольчих. Итоги осеменения от самцов, иммунизированных плазмой семени шести осемененных самок в контроле. Как показали

менения характеристики эякулятов были зарегистрированы всего через 2 нед после воздействий; процесс сперматогенеза у кроликов длится более месяца; следовательно, мишенью действия ауто- и аллоантител могут быть не только клетки и живчики, размещенные внутри извитого канальца, что неоднократно описано ранее, но и уже сформированные живчики из каудального участка эпидидимиса.

Таблица 2

Характеристика воспроизводительных функций крольчих, осемененных эякулятами самцов ауто- или аллоиммунизированных экстрактами живчиков

Самцы	Осемено-но самок	На самку		Рождаемость потомства			
		жел-тых тел	эм-брио-нов	Осемено-но самок	Из них окроли-лось	живых крольчат	
						на самку	в % к кон-тролю
До иммунизации	3	7	7	6	6	8,8	100
После иммунизации ауто	2	11	11	6	5	3,8	43
алло	2	10	6	6	1	1,0	11

Таблица 3

Изменение числа Э-розеток и качества семени у кроликов после аутоиммунизации плазмой семени

Группы	Э-розетки*, %	Объем эякулята, мл	Общее число живчиков в эякуляте (млн)	Подвижность живчиков	Целых акросом**, %
До иммунизации (контроль)	30±2,3	0,5	185	0,8	66
Аутоиммунизация	54±2,5	0,2	72	0,8	42
Разница	+24±3,4	-0,3	-113	0	-24

* Из 400 лимфоцитов по каждой группе; ** из 1400 живчиков по каждой группе ($p < 0,001$)

Исследование влияния ауто- и аллоиммунизации живчиками на результат осеменения показало, что иммунизация самцов живчиками отражается не только на биологической полноценности живчиков, но и на оплодотворяемости ооцитов (табл. 2). Обнаружена еще одна мишень действия антител к живчикам в организме самца — эмбрион, развивающийся из ооцитов, оплодотворенных живчиками иммунизированного самца.

От иммунизации самцов плазмой их семени мы ожидали снижения функций добавочных половых желез и уменьшения объема эякулята. Иммунный ответ и качество семени в итоге аутоиммунизации самцов плазмой их семени показаны в табл. 3, из которой видно, что аутоиммунизация плазмой семени вызвала иммунный ответ, значительно (более чем в два раза) снизила объем эякулята и общее число выделенных в эякулятах живчиков, как и предполагали, но вовсе не отразилась на их подвижности. Вместе с тем процент неповрежденных акросом снизился на статистически достоверную величину.

Хорошая подвижность живчиков в эякулятах самцов, иммунизированных плазмой семени, и более 40 % живчиков с неповрежденными акросомами позволяли надеяться на успешные результаты осеменения крольчих. Итоги осеменения показаны в табл. 4, из которой видно, что от самцов, иммунизированных плазмой из их эякулятов, ни одна из шести осемененных самок не принесла потомства против 100 % окрола в контроле. Как показали вскрытия пяти самок (три в контроле и две

после осеменения эякулятами иммунизированных самцов — на десятки суток после введения самкам семени), причина этого явления — полное отсутствие оплодотворения ооцитов, то есть потеря живчиками биологической полноценности при 100 % оплодотворения ооцитов в контроле.

Таблица 4
Результаты осеменения крольчих эякулятами самцов, аутоиммунизированных плазмой их семени

Группы	Оплодотворяемость ооцитов			Рождаемость потомства		
	осеменено самок	на самку		осеменено самок	из них окролилось	крольчат на самку
		желтых тел	эмбрионов			
До иммунизации (контроль)	3	6	6	6	6	9
Аутоиммунизация плазмой семени	2	9	0	6	0	0

Таким образом установлено, что аутоиммунизация самцов плазмой семени отражается не только на функции добавочных половых желез, как ожидалось, но также сводит к нулю результативность осеменения, несмотря на хорошую подвижность живчиков в эякулированном семени.

Обсуждение результатов исследований

Отрицательное действие спонтанной либо нарочитой аутоиммунизации самцов их семенем на сперматогенный эпителий в разных фазах формирования и созревания гамет убедительно доказано и объяснено ослаблением либо нарушением гематотестикулярных барьеров [7].

Обнаруженные в данной работе влияния ауто- и аллоиммунизации самцов отдельными компонентами их эякулятов на акросомный аппарат их живчиков, на оплодотворяемость ооцитов, а также на эмбриональную выживаемость выявили новые мишени действия аутоантител. Особенно неожиданной была 100 % неплодотворность осеменения самок эякулятами самцов, аутоиммунизированных плазмой их семени, несмотря на высокий процент (80 %) поступательно подвижных живчиков и более 40 % из них с целыми акросомами. Неплодотворность осеменения эякулятами таких самцов может быть предположительно объяснена тем, что антитела к обволакивающим антигенам, вызванным иммунизацией, образуют на поверхности живчиков комплексы, препятствующие капацитации либо блокирующие контакт с прозрачной зоной ооцитов.

В итоге данной работы установлено, что мишенями прямого действия аутоантител к живчикам оказались не только клетки сперматогенного эпителия на разных стадиях развития, но также сформированные эпидидимальные живчики (снизилась их подвижность, численность в эякулятах; произошла частичная деформация). Косвенно аутоантитела к живчикам повлияли отрицательно на процесс эмбриогенеза у самок, беременных от осеменения аутоиммунизированными самцами (снизилась пренатальная выживаемость).

Мишенями прямого действия аутоантител к плазме семени стали прежде всего секретирующие клетки добавочных половых желез, а также частично акросомы живчиков. Аутоантитела к семенной плазме произвели также совершенно неожиданный результат — полное отсутствие ооцитов самок, осемененных эякулятами аутоиммунизированных плазмой семени самцов. Продолжаются исследования для раскрытия механизма этого явления.

Сопоставление данных нашего опыта по определению мишеней действия аутоантител к отдельным компонентам эякулята с приведен-

ными выше результатами быков — носителей обходности периодических действий аутоантител к разработки метода предо-

I. I. Sokolovskaya

AUTOANTIBODY ACTION
AND SPERMS AFTER

The immune body action target immunization with their sperms. These treatments strongly increase blood of males and decreased the fertility. The most important and new result of the autoimmune body effect of the female rabbits, inseminate of live newborn rabbits from 100 % in control and 0 % from motility of their sperms. Possible developing contraception methods o

1. Бронская А. В., Соколовская И. И. Реакции лимфоцитов на ксе-Тез. II Всесоюз. симпозиум по физиологии и патологии репродуктивной системы животных. Тезисы докладов. М., 1980, с. 13—15.
2. Жаркин В. В. Иммунологический контроль за качеством спермы быков. — В кн. «Иммунология в животноводстве». М., 1980, с. 13—15.
3. Жаркин В. В. Флуоресцентный контроль за качеством спермы быков. — В кн. «Иммунология в животноводстве». М., 1980, с. 13—15.
4. Зубжидский Ю. Н. Эффективность высокоиммунитетной вакцины для работы с ксе-Тезом. М., 1980, с. 8—11.
5. Зеленская Т. М. Эндокринная регуляция репродуктивной функции. М., 1981, с. 146.
6. Ойвадис Р. Н., Соколовская И. И. Аутоиммунитет в аутоиммунитетной крови. Тезисы докладов II Всесоюз. симпозиума по физиологии и патологии репродуктивной системы животных. М., 1980, с. 13—15.
7. Райцина С. С. Травма семенного эпителия. М.: Сов. наука, 1957.
8. Соколовская И. И. Иммунологический контроль за качеством спермы быков. М.: Сов. наука, 1980, с. 13—15.
9. Соколовская И. И. Иммунологический контроль за качеством спермы быков. М.: Сов. наука, 1980, с. 13—15.
10. Соколовская И. И., Островская И. И. Аутоиммунитет в аутоиммунитетной крови. Тезисы докладов II Всесоюз. симпозиума по физиологии и патологии репродуктивной системы животных. М., 1980, с. 13—15.
11. Соколовская И. И., Ойвадис Р. Н. Аутоиммунитет в аутоиммунитетной крови. Тезисы докладов II Всесоюз. симпозиума по физиологии и патологии репродуктивной системы животных. М., 1980, с. 13—15.
12. Братанов К., Диков В., Попов Д. Болгарской Академии Наук. М., 1980, с. 13—15.
13. Chang M. C. Fertilizing capacity of sperm. — Nature (L), 1951, N 168, p. 697.
14. Chang M. C. A detrimental effect of sperm. — Nature (L), 1957, N 171, p. 100.
15. Weil A. J. Immunological differences between the rabbits. — Science (N. Y.), 1957, N 125, p. 100.
16. Voisin G. A., Delaunay A., Bouchard G. Iso and auto-sensibilization of antibodies against sperm. — Nature (L), 1957, N 171, p. 100.
17. Zappi E., Shulman S. Sperm antibodies and their effect on fertility. — Nature (L), 1957, N 171, p. 100.

Всесоюзный институт
животноводства

4 — Физиологический журнал, № 4.

ными выше результатами осеменения крупного рогатого скота эякулятами быков — носителей аутоиммунных тел приводит к выводу о необходимости периодического исследования эякулятов самцов-производителей для решения вопроса об их использовании. Данные о мишенях действия аутоантител в плазме семени могут служить основой для разработки метода предупреждения зачатия.

I. I. Sokolovskaya, A. I. Abilov, P. N. Oivadis, T. A. Tag

AUTOANTIBODY ACTION TARGETS OF SEMINAL PLASMA
AND SPERMS AFTER AUTOIMMUNIZATION OF MALE RABBITS

The immune body action targets induced in male rabbits either by auto- and alloimmunization with their sperms, seminal plasma or by testis trauma were investigated. These treatments strongly increased the spontaneous rosette percentage in peripheral blood of males and decreased the volume of ejaculates and the total number of sperms. The most important and new result of these experiments is detection of an indirect target of the autoimmune body effect on seminal plasma. It is the reproductive function of the female rabbits, inseminated with ejaculates from autoimmunized males. The number of live newborn rabbits from males, autoimmunized with sperms was 11 % against 100 % in control and 0 % from males, autoimmunized with seminal plasma, despite good motility of their sperms. Possible mechanisms of this phenomenon and prospects for developing contraception methods on this basis are discussed.

Список литературы

1. Бронская А. В., Соколовская И. И., Горбунова Р. И., Радченков В. П. Изменение реакции лимфоцитов на ксеногенные эритроциты в ходе беременности.— В кн.:— Тез. II Всесоюз. симпоз. по иммунологии воспроизведения. М., 1980, с. 185.
2. Жаркин В. В. Иммунологический способ оценки оплодотворяющей способности семени быков.— Животноводство, 1979, № 3, с. 64—65.
3. Жаркин В. В. Флуоресцентно-микроскопические исследования аутоиммунных реакций в семени быков.— В кн.: Тез. II Всесоюз. симпоз. по иммунологии воспроизведения. М., 1980, с. 13—13.
4. Зубжицкий Ю. Н. Эффективный метод получения преципитирующих сывороток с высоким титром для работы с люминесцирующими антителами.— Лаб. дело, 1960, № 5, с. 8—11.
5. Зеленская Т. М. Эндокринные взаимоотношения и тестикулярные антитела.— Киев : Наук. думка, 1981.—146 с.
6. Ойвадис Р. Н., Соколовская И. И., Керимбаев М. Б. Связь реакции оседания живчиков в аутосыворотке крови (РОС) быков с результатами осеменения.— В кн.: Тез. II Всесоюз. симпоз. по иммунологии воспроизведения. М., 1980, с. 23—23.
7. Райцина С. С. Травма семенника и аутоиммунитет.— М.: Медицина, 1970.—183 с.
8. Соколовская И. И. Проблемы оплодотворения сельскохозяйственных млекопитающих.— М.: Сов. наука, 1957.—315 с.
9. Соколовская И. И. Иммунные реакции в воспроизведении сельскохозяйственных животных и результаты новых экспериментов.— В кн.: Направления и новые результаты исследований по биологии воспроизведения животных. Дубровицы, 1977, с. 3—16.
10. Соколовская И. И., Островский Ф. М. Цитологические, физиологические и иммунные реакции на вазектомию, травму и перегрев семенников.— В кн.: Тр. II Междунар. симпоз. по иммунологии воспроизведения. София, 1973, с. 106—116.
11. Соколовская И. И., Ойвадис Р. Н., Абилов А. И. и др. О значении акросомы в оценке семени самцов-производителей.— Животноводство, 1981, № 9, с. 39—41.
12. Братанов К., Диков В., Попова Г. О формировании антител у производителей: Труды Болгарской Академии Наук, 1964, т. 4, № 17, с. 1117—1118.
13. Chang M. C. Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into fallopian tubes.— Nature (L), 1951, N 168, p. 697—698.
14. Chang M. C. A detrimental effect of seminal plasma on the fertilization capacity of sperm.— Nature (L), 1957, N 179, p. 258—259.
15. Weil A. J. Immunological differentiation of epididymal and seminal spermatozoa of the rabbits.— Science (N. Y.), 1960, N 131, p. 1040—1042.
16. Voisin G. A., Delaunay A., Barber M. Sur des lésions testiculaires provoqués chez les cobayes iso and autosensibilisation.— Annales Institut Pasteur, 1951, N 81, p. 48—63.
17. Zappi E., Shulman S. Sperm sedimentation patterns. A semimicromethod for evaluation of antibodies against spermatozoa.— Intern. J. Fertility, 1971, N 16, p. 75—78.

Всесоюзный институт
животноводства

Поступила в редакцию
12.III 1982 г.

УДК 615.365.631:616

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

ИММУНОГЛОБУЛИНЫ ТЕСТИКУЛЯРНОЙ АНТИСЫВОРОТКИ И ИХ ДЕЙСТВИЕ НА ОРГАНЫ-ЭФФЕКТОРЫ

Учитывая роль половых желез в общей цепи нейро-гуморальной регуляции функций организма, а также их крайнюю чувствительность к действию различных факторов, в том числе и аутоантителам [11, 13, 14], в отделе иммунологии и цитотоксических сывороток Института физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР в течение ряда лет изучаются антисыворотки, специфичные к семенникам и яичникам лабораторных и сельскохозяйственных животных и человека. Результаты экспериментальных исследований [1, 3, 4, 14] явились обоснованием возможности применения сывороток, специфичных к половым железам, в клинике [2, 6, 9, 14] и животноводстве [5].

Несмотря на широкие комплексные экспериментально-клинические исследования, направленные на изучение эффектов и механизма действия антисывороток, имеются проблемы, требующие своего решения. В связи с этим перед нами были поставлены следующие задачи: во-первых, с целью повышения специфичности выделить из тестикулярной антисыворотки иммуноглобулины М и G и изучить в иммунологических и цитотоксических реакциях их свойства. Во-вторых, учитывая актуальность проблемы мужского бесплодия в современной сексопатологии, попытаться приблизить условия эксперимента к условиям, при которых протекает патологический процесс у человека. Для этой цели были использованы тестикулярные антитела, введение которых имитировало процесс аутоиммунизации с того момента, когда в организме появляются аутоантитела, являющиеся патогенетическим фактором, способным повреждать соответствующие клетки, ткани или органы. В-третьих, учитывая роль так называемых нормальных антител, закономерно появляющихся в организме, как физиологических регуляторов регенерационных процессов, вводили соответствующие количества антител животным со сниженной функцией гонад, используя в качестве модели крыс с гипогонадизмом возрастного характера. Проводилось также изучение в сравнительном аспекте эффектов действия различных классов иммуноглобулинов (М и G) на семенники животных.

Методика исследований

Антитестикулярную цитотоксическую сыворотку (АТЦС) получали посредством иммунизации кроликов водно-солевыми экстрактами из паренхимы семенников крыс. Иммуноглобулины класса М и G выделяли из АТЦС методом гель-фильтрации на сефадексе G-200 по Флодину и Киландеру [17]. Гель-фильтрацию проводили на колонке 2,6×75 см, заполненной сефадексом. Элюцию осуществляли с помощью 0,02 М раствора трис-буфера (рН 8,0) с 0,2 М 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. Определяли количество белка. Идентификацию иммуноглобулинов класса М и G проводили методом аналитического дискэлектрофореза в полиакриламидном геле. Электрофорез проводили в аппарате фирмы «Ренал» модель 69.

После диализа иммуноглобулинов против изотонического раствора хлорида натрия IgG и М вводили крысам-самцам линии Вистар 5—7 мес возраста в хвостовую вену ежедневно, пятикратно из расчета по 0,5 мг белка на 100 г массы тела на одно введение. Животным на поздних этапах онтогенеза (24—27 мес) фракции вводили трехкратно с интервалом в два дня из расчета 0,00045 мг белка на 100 г массы тела. Исследования проводились на 3, 10, 17—21-е сут. после окончания введения иммуноглобулинов. Для гистологических исследований животных декапитировали. Семенники фиксировали в 10 % нейтральном формалине, проводили в спиртах восходящей крепости,

парафиновые срезы толщиной 5 микрон, окрашивали гематоксилином и эозином, ширину межканальцевой щели и диаметр ядер. Подсчитывали количество ядер в 100 клетках. Препараты рассматривали в 100-кратном увеличении. Для статистической обработки результатов использовали метод дисперсионного анализа. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

1. Проведенные исследования водно-солевыми экстрактами семенников крыс, синтезом специфических антител, иммунологическую и цитотоксическую активность, свидетельствуют о том, что антитела к семенникам и яичникам обладают высокой активностью, чем антитела к другим тканям. Однако она остается достаточной для того, чтобы вызывать реакцию в IgG фракции. Антитела к семенникам обладают высокой активностью, чем антитела к другим тканям. Однако она остается достаточной для того, чтобы вызывать реакцию в IgG фракции. Антитела к семенникам обладают высокой активностью, чем антитела к другим тканям. Однако она остается достаточной для того, чтобы вызывать реакцию в IgG фракции.

С помощью метода аналитического дискэлектрофореза в полиакриламидном геле выявлено, что первая фракция обладает высокой электрофоретической подвижностью, что свидетельствует о том, что эта фракция относится к классу М. Правильно, что при данных условиях электрофореза в полиакриламидном геле иммуноглобулины класса М и G разделяются. Это обусловлено тем, что при данных условиях электрофореза в полиакриламидном геле иммуноглобулины класса М и G разделяются. Это обусловлено тем, что при данных условиях электрофореза в полиакриламидном геле иммуноглобулины класса М и G разделяются.

II. При гистологическом исследовании пятикратное введение антител к семенникам вызывает отслоение клеток канальцев, что свидетельствует о повреждении клеток канальцев. Третье сутки после введения антител к семенникам наблюдается повреждение клеток канальцев. Третье сутки после введения антител к семенникам наблюдается повреждение клеток канальцев. Третье сутки после введения антител к семенникам наблюдается повреждение клеток канальцев.

парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. На препаратах окуляр-микрометром с подвижной шкалой измеряли диаметр семенных канальцев, ширину межканальцевой соединительной ткани, количество glanduloцитов и диаметр их ядер. Подсчитывали количество семенных канальцев (в %), содержащих определенные клеточные ассоциации, исходя из классификации [18, 19]. Для электронной микроскопии брали кусочки семенных канальцев, для чего крысы наркотизировали нембуталом, перфузировали сосудистое русло 2,5 % холодным раствором глутаральдегида с последующей фиксацией в 1 % растворе OsO_4 , обезвоживали в спиртах восходящей крепости, ацетоне и заливали в аралдит. Срезы толщиной 50 нм полученные на ультрамикротоме фирмы LKB, контрастировали цитратом свинца. Просмотр и фотографирование проводили на электронном микроскопе типа BC-513 A. Во всех экспериментах контролем служили семенники интактных животных и после введения иммуноглобулинов, выделенных из нормальной кроличьей сыворотки. Цифровые данные обрабатывали статистически.

Результаты исследований и их обсуждение

1. Проведенные исследования показали, что иммунизация кроликов водно-солевыми экстрактами из ткани семенников крыс вызывает синтез специфических антител типа М и G, которые проявляют разную иммунологическую и цитотоксическую активность. Полученные данные свидетельствуют о том, что комплементсвязывающая активность АТЦС и ее цитотоксическое действие связаны в основном с активностью ее Ig G фракции. Антитела класса G, выделенные из АТЦС, в реакции потребления комплемента и цитотоксическом тесте проявляют более высокую активность, чем Ig M. После абсорбции неспецифических антител активность АТЦС и выделенных из нее Ig M и Ig G снижается, однако она остается достаточно высокой для цельной сыворотки и ее Ig G фракции. Абсорбированная АТЦС, а также Ig M и Ig G специфически реагируют только с тестикулярным антигеном.

С помощью метода аналитического диск-электрофореза в полиакриламидном геле выявлена различная электрофоретическая подвижность белковых фракций АТЦС, полученных при гель-фильтрации. Обнаружено, что первая белковая фракция (М) имеет наименьшую электрофоретическую подвижность и состоит из двух субфракций. Исходя из электрофоретической подвижности этой группы белков, можно констатировать, что эта фракция представляет собой иммуноглобулины класса М. Правомерность такого утверждения вытекает из того, что при данных условиях эксперимента в однородной системе полиакриламидного геля иммуноглобулины класса М находятся на старте электрофореза. Это обусловлено размером и молекулярной массой Ig M. Вторая фракция при диск-электрофорезе образует ряд дискретных зон (три субфракции), что свидетельствует о ее гетерогенности. Наиболее интенсивную зону представляют собой Ig G. Такая степень прохождения белков в полиакриламидном геле 7,5 % концентрации свойственна фракции Ig G. Рядом лежащая зона может рассматриваться как одна из субфракций антител класса G. Остальные зоны образованы за счет трансферринов, α - и β -глобулинов. Третий белковый пик — это альбумины с примесью α - и β -глобулинов. Такое расположение дисков в полиакриламидном геле обусловлено размером молекул и электрофоретической подвижностью альбуминов (рис. 1).

II. При гистологическом исследовании структур семенника показано, что пятикратное введение Ig G вызывает в большинстве семенных канальцев отслоение клеток сперматогенного эпителия от базальной мембраны (третьи сутки). Сустентоциты (клетки Сертоли) характеризуются полиморфностью: в одних семенных канальцах они с плотной гомогенной цитоплазмой, в других — светлой, прозрачной. В этот срок исследования преобладают семенные канальцы (68 %) на I—VIII стадиях сперматогенеза, т. е. присутствуют в основном четыре ассоциации клеток: сперматогонии типа А и Б, сперматоциты I порядка, молодые сперматиды и спермии. Однако клетки сперматогенного эпителия изменены: сперматогонии типа А с плотной эозинофильной цито-

ЭТКИ

альной
льность
[11, 13,
ститута
ет изу-
и лабо-
ультаты
ванием
селезам,

ические
ма дей-
ешения.
ачи: во-
тикуляр-
ноологи-
читывая
сексопа-
иям, при
ой цели
имити-
ганизме
актором,
органы.
, законо-
глаторов
ва анти-
стве мо-
ось так-
зличных

средством
ков крыс.
и на сефа-
а колонке
М раство-
проводили
на спек-
на волне
ов класса
ламидном

да натрия
овую вену
дно введе-
трехкрат-
ла. Иссле-
ноглобули-
ки фикса-
крепости,

воды, и их образование характеризует патологическое состояние клетки [10]. В содержимом этих структур выявляются гранулы и светлые полости. Авторы [10] считают, что в основе этого явления лежит реакция действующего агента с сульфгидрильными группами белков, веду-



Рис. 2. Фрагменты цитоплазмы суспендоцитов и glandулоцита после введения IgG.

a — суспендоцит на третьи сутки после введения IgG. Митохондрия с деструкцией крист и очаговым просветлением матрикса (1), эндоплазматический ретикулум в виде крупных и мелких вакуолей (2), аутофагосома (3). *б* — суспендоцит на 10-е сутки после введения IgG. На цитоплазматической поверхности клетки видны структуры овальной и причудливой формы (1). Электронограмма $\times 22\,500$. *в* — glandулоцит на третьи сутки после введения IgG. Бесструктурные тяжи в цитоплазме клетки — место фиксации иммунного комплекса — депозит (Д). Электронограмма $\times 22\,880$.

щая 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.

Через 3 нед после введения Ig G 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 примерно такой же, как и у интактных животных. Количество glanduloцитов и их диаметр уменьшены по сравнению с 10 сутками исследования, но по сравнению с интактными животными количество glanduloцитов достоверно выше. Таким образом, наряду с деструктивными процессами отмечаются и репаративные.

Пятикратное введение Ig M (3-и сутки после окончания введения) вызывает умеренное полнокровие сосудов. Наряду с уменьшением количества семенных канальцев на IX—XIV стадиях сперматогенеза увеличивается количество канальцев в периоде роста и созревания (81 %). Определяются единичные семенные канальцы с дискомплексированными клетками эпителия. Ширина межканальцевой соединительной ткани не изменена, но в ней выявляются единичные гистиоцитарные и лейкоцитарные клетки, которые видны также и под соединительнотканной капсулой. Размер ядер glanduloцитов примерно такой же, как 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 glanduloцитов уменьшено, но ядра клеток более крупных размеров ($2,33 \pm 0,12$ мкм — в контроле, $2,7 \pm 0,06$ мкм в опыте).

Через 3 нед 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 glanduloцитов примерно такие же, как у интактных животных. Таким образом, при анализе полученных данных выявляются некоторые отличия в действии М и G фракций иммуноглобулинов на морфо-функциональное состояние семенников половозрелых животных.

При действии Ig G статистически достоверно увеличивается ширина межканальцевой соединительной ткани и количество glanduloцитов, что не отмечено при действии и Ig M. Увеличение количества glanduloцитов, вероятно, обусловлено нарушением корреляции эндокринных желез. Можно говорить в данном случае о гормональной или коррелятивной гипертрофии, являющейся реакцией на гипоплазию вплоть до аплазии сперматогенного эпителия в отдельных канальцах, и описанные изменения трактовать как компенсаторно-приспособительный процесс.

При пятикратном введении Ig G выявляются изменения стенки сосудов. Согласно данным литературы [8], к предполагаемым механизмам повышения проницаемости стенок терминальных сосудов (экссудация и эмиграция клеток при взаимодействии комплекса антиген — антитело) относятся высвобождение гистамина и серотонина, образование биологически активных фрагментов из комплемента, активация специфического фактора проницаемости плазмы и выделение субстанций из полиморфноядерных лейкоцитов.

Ig G обладает способностью проходить через стенки капилляров [8], следовательно, это облегчает их прохождение через гемато-тестикулярный барьер, одним из структурных компонентов которого является сосудистая стенка [11, 12]. Ig M не обладает такой способностью [8], чем, видимо, и обусловлен незначительный ингибирующий эффект этой фракции иммуноглобулинов при пятикратном введении.

В результате проведения о том, что в данной более выраженный эффект имеет важное теоретическое значение для использования соответствующей модели патогенеза част орхита.

III. На старых животных в качестве модели гипогонадизма Ig G и Ig M на морфо-функционально были изучены с данной возрастной группой период характеризует межканальцевых прослоек, $15,3 \pm 0,41$ мкм. Диаметр с атрофическими канальцами трактовать как отражение канальцев равен $117,91 \pm 1$ мкм. Яркость клеток, что придельных клеток или групп канальцев на I—IX стадиях свидетельствует о торможении определяются нескольких пным ядром с пылевидным тичным ядром. Видны некоторых можно рассматривать изменений клеток. Средний $\pm 0,069$ мкм.

Иммуноглобулины G изменение диаметра семенных, но большим насыщением, представленного ассоциация. Процент канальцев (34 %) по сравнению с интактными клетками-сперматогониями ядрышком, что указывает митозы сперматоцитов.

Межканальцевая соединительная ткань, что характерно для соответствующих величинам, диаметр glanduloцитов не менее $1,73 \pm 0,054$ мкм), что увеличение объема ядер митоза и свидетельствует о синтезе и свидетельствует о синтезе. Сосуды гиперемии, что характерно для тами крови. В окружающей среде циты и лимфоциты. Иммуноглобулин активизирующее действие свидетельствует низкий процент ассоциации клеток, что созревания клеток. Однако верно увеличивается ($1,71 \pm 0,054$ мкм) интактными животными. Иммуноглобулин кроличьей сыворотки, не с исследования оказывает прим и IgM, выделенный из АТЦ.

На десятые сутки после введения Ig G диаметр семенных канальцев б

I—VIII
указы-
одних
отрофи-
дистро-
раны и
пальцы.
состоя-
тельные
диаметр
зотных.
ению с
отными
рядом с

дения)
тем ко-
за уве-
(81 %).
ванны-
й тка-
и лей-
канной
у ин-
ок ши-
Наря-
ления.
рупных

ающем
роста
татого-
глан-
обра-
гличия
ональ-

шири-
цитов,
ндуло-
их же-
лятив-
апла-
ые из-
лесс.
ки со-
ханиз-
ссуда-
— ан-
азова-
зация
бстан-

ляров
тести-
вляет-
юстью
ффе́кт

В результате проведенных исследований можно прийти к заключению о том, что в данной постановке эксперимента Ig G оказывает более выраженный эффект на семенники половозрелых животных, что имеет важное теоретическое и практическое значение, в частности, для использования соответствующих доз Ig G в качестве инструмента для моделирования патологического процесса в семенниках с целью изучения патогенеза часто встречающегося в клинике аутоиммунного орхита.

III. На старых животных 24—27 мес возраста, взятых в опыт в качестве модели гипогонадизма возрастного характера, изучали влияние Ig G и Ig M на морфо-функциональное состояние семенников. Предварительно были изучены структуры семенников интактных животных данной возрастной группы. Исследования показали, что этот возрастной период характеризуется затуханием сперматогенеза, разрастанием межканальцевых прослоек, ширина которых составляет, по нашим данным, $15,3 \pm 0,41$ мкм. Диаметры канальцев отличаются между собой. Наряду с атрофичными канальцами видны гипертрофированные, что можно трактовать как отражение процесса адаптации. В среднем диаметр канальцев равен $117,91 \pm 1,3$ мкм. Во многих канальцах нарушена полярность клеток, что приводит к выявлению в полости канальцев отдельных клеток или групп, оторванных от основного ряда. Число канальцев на I—IX стадиях сперматогенеза составляет 22 %, что свидетельствует о торможении роста и созревания клеток. Гландулоциты определяются нескольких типов: с овальным или эллипсовидным крупным ядром с пылевидным гранулами хроматина и с мелким пикнотичным ядром. Видны также гипертрофированные клетки, наличие которых можно рассматривать как результат компенсации возрастных изменений клеток. Средний диаметр ядер клеток составляет $1,37 \pm 0,069$ мкм.

Иммуноглобулины G вызывают статистически достоверное увеличение диаметра семенных канальцев ($128,2 \pm 2,6$ мкм), что обусловлено большим насыщением канальцев клетками сперматогенного эпителия, представленного ассоциациями клеток в состоянии роста и созревания. Процент канальцев с наличием указанных ассоциаций увеличен (34 %) по сравнению с интактными животными (22 %). Родоначальные клетки-сперматогонии типа А крупные, с четко выраженным ядрышком, что указывает на усиление синтеза РНК. Определяются митозы сперматоцитов.

Межканальцевая соединительная ткань представлена широкими пластинами, что характерно для животных данного возраста. Ее размеры соответствуют величинам, определяемым у интактных крыс. Количество glanduloцитов не меняется, но диаметры ядер клеток достоверно выше ($1,73 \pm 0,054$ мкм), чем у интактных животных. По мнению [15], увеличение объема ядер может быть связано с изменением белкового синтеза и свидетельствовать об активации их функционального состояния. Сосуды гиперемизированы, выполнены форменными элементами крови. В окружающей их ткани определяются единичные гистиоциты и лимфоциты. Иммуноглобулины M оказывают слабо выраженное активирующее действие на сперматогенез (третьи сутки). Об этом свидетельствует низкий процент семенных канальцев (25 %), содержащих ассоциации клеток, характеризующих стадию активного роста и созревания клеток. Однако диаметр ядер клеток статистически достоверно увеличивается ($1,71 \pm 0,08$ мкм, $p < 0,001$) по сравнению с интактными животными. Иммуноглобулин G, выделенный из нормальной кроличьей сыворотки, не содержащей иммунных тел, в этот срок исследования оказывает примерно такое же действие на семенники, как и IgM, выделенный из АТЦС.

На десятые сутки после введения IgG, выделенного из АТЦС, диаметр семенных канальцев больше, чем у интактных животных ($121,2 \pm$

$\pm 2,5$ мкм), сперматогенез активнее, о чем свидетельствует увеличение числа канальцев (49 %), содержащих популяции клеток сперматогенного эпителия на I—IX стадиях, т. е. генерации клеток, включающих молодые сперматиды и более зрелые их формы на поздних стадиях развития. На повышение функциональной активности клеток указывает также наличие родоначальных клеток с двумя ядрышками. Диаметр ядер гландулоцитов больше ($1,56 \pm 0,057$ мкм), чем у интактных животных, но меньше чем на третьи сутки. После введения IgM активация сперматогенеза на десятые сутки выражена больше, чем на третьи сутки, но меньше, чем после введения IgG в этот срок исследования. На это указывает незначительное увеличение числа семенных канальцев (30 %) на I—IX стадиях клеточного цикла. Но диаметр ядер гландулоцитов увеличен IgG, выделенный из нормальной кроличьей сыворотки, изменяет только диаметр гландулоцитов ($2,2 \pm 0,09$ мкм, $p = 0,01$), что может быть обусловлено действием гетерогенного белка, оказывающего в небольших концентрациях стимулирующий эффект на клетки, имеющие соединительнотканное происхождение.

На 17—21-е сутки после введения IgG из АТЦС отмечается гиперплазия гландулоцитов (122 %). Преобладают семенные канальцы, содержащие клетки сперматогенного эпителия на IX—XIV стадиях клеточного цикла, в которых сперматозоиды ориентированы головками в сторону базальной мембраны, вплоть до внедрения в нее в отдельных канальцах, или прикреплены к sustentocytam, одной из главных функций которых, по мнению [7], является создание условий для созревания сперматид.

Через 3 нед после введения IgM в семенниках выявляется более широкий слой герминативных клеток, чем в предыдущие сроки исследования. Ядра гландулоцитов крупные. В этот срок исследования IgG из нормальной кроличьей сыворотки вызывают увеличение числа канальцев (40 %), содержащих популяции клеток на ранних этапах развития, а также увеличение диаметра ядер гландулоцитов.

Таким образом, на основании полученных данных можно прийти к заключению о том, что IgG из АТЦС вызывают у животных с гипофункцией гонад реактивацию сперматогенеза и повышение функциональной активности гландулоцитов. IgM из АТЦС оказывают менее выраженный эффект на семенники старых животных, который проявляется больше в отдаленные сроки. Полученные данные можно объяснить, исходя из особенностей IgG и IgM. Молекулярный вес IgG, как известно, равен 150 тыс, IgM—900 тыс, т. е. молекула IgG меньше по размеру, чем молекула IgM в шесть раз, следовательно она обладает большей способностью проникать через стенку капилляра, что, по-видимому, и облегчает ее прохождение через гемато-тестикулярный барьер, одним из компонентов которого является стенка сосуда.

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

IMMUNOGLOBULINS OF TESTICULAR ANTISERUM AND THEIR ACTION ON EFFECTOR ORGANS

Summary

Immunoglobulins G and M isolated from testicular antiserum specific for rat sexual glands were studied in vivo and in vitro for their properties in animals of two age groups: mature (5-7 months) and old (24-27 months).

Old animals were taken as a model of age-induced hypogonadism. Methods of gel-filtration, analytical polyacrilamide disk-gel electrophoresis, light and electron microscopy and morphocytometric analysis were employed in the study.

IgG is shown to have a more pronounced biological effect on testes of both mature and old animals, unlike IgM.

Results of the study permit explaining what fraction is responsible for specific effect of testicular antiserum and using various IgG concentrations as an instrument for

affecting sexual glands: for stimulation of pathogenesis of autoimmune orchitis the morphofunctional state of sexual glands has theoretical and practical significance.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR,

Cn

1. Барченко Л. И. Первичная реакция на малые дозы специфических антигенов. — Энзиматических исследований. — 1 зоологии. Киев: Наук. думка, 198
2. Гоноровский А. Г. Влияние иммунной системы на функциональное состояние яичников. — Автореф. дис. ... канд. м
3. Зеленская Т. М. Влияние антигенов сывороток на функциональное состояние семенников крыс в возрастном аспекте. — 1967.—20 с.
4. Зеленская Т. М. Эндокринные нарушения. — Наук. думка, 1981.—148 с.
5. Ильевич М. В., Нищименко О. В. Влияние цитотоксической терапии на функцию яичников. — Проблемы андрологии и антивариальной медицины. — Киев, 1979, 3, с. 63—65.
6. Карр Ян. Макрофаги. обзор уль. — 1988 с.
7. Мовэт Г. Острое воспаление. — М.: Медицина, 1975. с. 9—1
8. Нищименко О. В. Влияние иммунной системы на половые железы при нарушении их функции. — Киев, 1970.—22 с.
9. Поликарп А., Бесси М. Элементы анатомии. — Киев, 1970.—22 с.
10. Райцина С. С. Травма семенников. — Киев, 1970.—22 с.
11. Райцина С. С., Гладкова Н. С. Ультраструктура его основных компонентов. — В кн: Регуляция сперматогенеза. — В кн: Ческие барьеры, посвященного 1 (20—23 нояб. 1978 г.). М., 1978, с. 216—217.
12. Соколовская И. И., Милованов М. : Колос, 1981.—263 с.
13. Спасокукоцкий Ю. А., Ильевич Н. В. Влияние иммунной системы на цитотоксических сывороток. — 216 с.
14. Ташкэ К. Введение в количественную иммунологию. — Изд-во Акад. СРР, 1980.—191 с.
15. Чернышов В. П. Иммунологическое бесплодие. — Урология и нефрология. — 1980, 3, с. 403.
16. Flodin P., Killander J. Fractionation of testicular antiserum. — Biochem. acta, 1962, 63, N 3, p. 403.
17. Leblond C. P., Clermont J. Sperm revealed by the periodic acid-fuchsin reaction. — J. Anat., 1961, 108, N 1, p. 167—215.
18. Perey P., Clermont J., Leblond C. P. — Amer. J. Anat., 1961, 108, N 1, p. 167—215.

Институт физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

чение
гоген-
ющих
адиях
ывает
аметр
к жи-
стива-
ретьи
я. На
льцев
дуло-
зоро-
(0,01),
ываю-
летки,

гипер-
ы, со-
к кле-
ами в
льных
функ-
зрева-

более
иссле-
я IgG
та ка-
х раз-

прийти
с гипо-
ациона-
ее вы-
оявля-
яснить,
как из-
ше по
ладает
по-ви-
лярный

r rat se-
two age
s of gel-
microsc-
h mature
ecific ef-
ment for

affecting sexual glands: for simulation of an autoimmune process with the aim to study pathogenesis of autoimmune orchitis on the one hand, and with the aim to reactivate the morphofunctional state of sexual glands on the other hand, which is of important theoretical and practical significance.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Барченко Л. И. Первичная реакция клеток культур тканей семенника на действие малых доз специфических антител по данным электронномикроскопических и гистоэнзиматических исследований.— В кн.: Актуальные проблемы современной патофизиологии. Киев: Наук. думка, 1981, с. 36—37.
2. Гоноровский А. Г. Влияние иммунной антиовариальной цитотоксической сыворотки на функциональное состояние яичников женщины при некоторых формах их недостаточности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Киев, 1973.—19 с.
3. Зеленская Т. М. Влияние антиовариальной и антиэпидидимальной цитотоксических сывороток на функциональное состояние и морфологические структуры яичников и семенников крыс в возрастном разрезе: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Киев, 1967.—20 с.
4. Зеленская Т. М. Эндокринные взаимоотношения и тестикулярные антитела.— Киев: Наук. думка, 1981.—148 с.
5. Ильевич М. В., Ницименко О. В., Гоноровский А. Г. та ін. До проблеми застосування цитотоксинотерапії в тваринництві.— Фізіол. журн., 1977, 23, № 6, с. 723—728.
6. Ильевич Н. В., Барченко Л. И., Ницименко О. В. и др. Изучение действия антиэпидидимальной и антиовариальной цитотоксических сывороток на половые железы животных и человека.— Проблемы патологии в эксперименте и клинике: Сб. науч. тр., 1979, 3, с. 63—65.
7. Карр Ян. Макрофаги. обзор ультраструктуры и функции.— М.: Медицина, 1978.—188 с.
8. Мовэт Г. Острое воспаление.— В кн.: Воспаление, иммунитет и гиперчувствительность. М.: Медицина, 1975. с. 9—116.
9. Ницименко О. В. Влияние иммунной антиэпидидимальной цитотоксической сыворотки на половые железы при нарушении их гормональной функции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Киев, 1970.—22 с.
10. Поликар А., Бесси М. Элементы патологии клетки.— М.: Мир, 1970.—348 с.
11. Райцина С. С. Травма семенника и аутоиммунитет.— М.: Медицина, 1970.—182 с.
12. Райцина С. С., Гладкова Н. С., Давыдова А. И. Гемато-тестикулярный барьер, ультраструктура его основных компонентов, проницаемость и роль в организации и регуляции сперматогенеза.— В кн.: Тез. докл. V совещ. по проблеме «Гисто-гематические барьеры», посвященного 100-летию со дня рождения академика Л. И. Штерн (20—23 нояб. 1978 г.). М., 1978, с. 80.
13. Соколовская И. И., Милованов В. К. Иммунология воспроизведения животных.— М.: Колос, 1981.—263 с.
14. Спасокукоцкий Ю. А., Ильевич Н. В., Барченко Л. И. и др. Действие специфических цитотоксических сывороток на половые железы.— Киев: Наук. думка, 1977.—216 с.
15. Ташкэ К. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию. Бухарест: Изд-во Акад. СРР, 1980.—191 с.
16. Чернышов В. П. Иммунологическая характеристика клинических форм мужского бесплодия.— Урология и нефрология, 1979, № 6, с. 48—53.
17. Flodin P., Killander J. Fractionation of human serum proteins by gell-filtration.— Biochem. acta, 1962, 63, N 3, p. 403—410.
18. Leblond C. P., Clermont J. Spermiogenesis of rat mouse, hamster and guinea pig as revealed by the periodic acid-fuchsin sulfurous acid technique.— Amer. J. Anat., 1952, 90, N 2, p. 167—215.
19. Perey P., Clermont J., Leblond C. P. The wave of the seminiferous epithelium in the rat.— Amer. J. Anat., 1961, 108, N 1, p. 47—77.

Институт физиологии
им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
1.III 1982 г.

УДК 612.017.1:615.276:616—002.5

А. А. Чумаков, Е. Ф. Чернушенко

ИММУНОТЕРАПИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА
У МОРСКИХ СВИНОК

Несмотря на значительные успехи в лечении туберкулеза, проблема повышения его эффективности остается актуальной. В настоящее время существует большой набор эффективных антибактериальных препаратов, однако течение туберкулеза в значительной степени определяется и состоянием иммунологической реактивности. Как показали исследования [1, 2, 9, 10, 11 и др.], при туберкулезе наблюдается вторичный иммунодефицит. Поэтому вполне правомочно стремление улучшить результаты терапии больных туберкулезом посредством воздействия на иммунную систему больного с помощью различных патогенетических средств (гормоны тимуса, левамизол и др.). В предыдущих исследованиях [13] доказана возможность влияния на иммунные процессы введением *in vivo* фитогемагглютинаина (ФГА).

Для стимуляции иммунологической реактивности больных с онкопатологией разработан метод применения лимфоцитов, активированных *in vitro* ФГА [3].

Подобных исследований при туберкулезе не проводилось. Целью настоящей работы было выяснение влияния аутологичных лимфоцитов, стимулированных *in vitro* ФГА, на иммунологическую реактивность организма и течение экспериментального туберкулезного процесса.

Методика исследований

Опыты проведены на морских свинках-самцах массой 500 ± 20 г. Шесть интактных животных было исследовано для выяснения исходных иммунологических показателей (I группа).

Оставшихся свинок иммунизировали 0,3 мг вакцины БЦЖ в 0,5 мл физиологического раствора подкожно в правую паховую область и спустя 30 дней заражали вирулентными микобактериями туберкулеза $H_{37}Rv$ по 0,01 мг сухой массы двухнедельной культуры в 0,5 мл физиологического раствора подкожно в левую паховую область. После заражения животные были разделены на следующие экспериментальные группы по 6 свинок в каждой: II — контроль инфекции, III — подвергнутые иммунотерапии стимулированными аутолимфоцитами, IV — леченные изониазидом в дозе 3 мг/кг с 15 по 48-й день после заражения; V — получавшие изониазид в те же сроки на фоне иммунотерапии стимулированными аутолимфоцитами.

Активацию лимфоцитов проводили двукратно. На 15 и 30-й день после заражения из сердца забирали по 2 мл крови и культивировали при $37^\circ C$ на протяжении 48 ч в среде Игла с глутамином и 20 % сыворотки крупного рогатого скота, содержащей 80 мкг/мл ФГА П. После окончания периода культивирования эритроциты разрушали воздействием гипотонического шока в течение 30 с, клетки отмывали 3 раза физиологическим раствором и вводили внутривенно по [6] в 3 мл физиологического раствора, соблюдая принцип аутологичности. Выход клеток $3-8 \times 10^6$, жизнеспособность — 98—99 %. На 48-й день после заражения морских свинок забивали обескровливанием.

Перед заражением (30-й день после вакцинации БЦЖ) и за 24 ч до забоя (47-й день после заражения) всем животным ставили внутрикожные туберкулиновые пробы с 0,1 мл альт-туберкулина в разведении 1:10 и исследовали реакцию бласттрансформации лимфоцитов периферической крови (РБТЛ) с ФГА и туберкулином по [7].

У забитых морских свинок вычисляли индекс массы лимфоидных органов по [14] и макроскопическую пораженность внутренних органов туберкулезными очагами по [5]. Клеточные популяции тимуса, селезенки, правого и левого паховых лимфатических узлов исследовали в реакции плазматизации по [4]. В тимусе, селезенке, лимфатических узлах и костном мозге определяли процентное содержание Е- и ЕАС-розеткообразующих клеток по [17]. Исследовали формулу крови с дифференцированным подсчетом мононуклеаров по [8], в сыворотке крови определяли титр комплемента по [10] и противотуберкулезных антител по [15]. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики.

Через 30 дней после ны иммунологические сд кулиновыми пробами ($p = 238,1 \pm 19,6$ мм²), РБТЛ против $33,8 \pm 1,4$ % у ин культурах с туберкулин $\pm 0,4$ %, $p < 0,001$). Поя ких титрах ($\log 2 = 1,6 \pm$

Заражение вирулен шему усилению кожно кожных проб во II гр $p < 0,02$), но интенсивн беркулином (до $4,4 \pm 0, p < 0,001$). Уровень про $\pm 0,8$ ($p < 0,05$). У жив па), получавших изони го их воздействия (V на ФГА было значител соотносительно).

Только у морских лась высокой ($7,3 \pm 2,5$ ственно до $5,3 \pm 1,0$ % кожных туберкулинов глютининов не отлича лей у животных II гру высоте развития прот носительно доброкачес хроническому течению показало, что у морск была значительно бол ной вакцинации живо па) мало изменяла п ла). Введение аутол группа) приводило к $16,6 \pm 5,3$ ($p < 0,1$), со вало почти полной ли ла, $p < 0,001$). В таб. и лимфатических узл вированными ФГА ау менением изониазида сы тимуса и лимфат нию индекса массы фойдных органов вы

В тимусе у морс стов ($11,7 \pm 2,1$ на ф вотных, $p < 0,01$). Эт ФГА лимфоцитами, (IV группа) число только лимфоцитов (числа бластов ($72,7 \pm$

Количество про интактных животных: чий в их числе, за

В селезенке ко ределялся невысоки интактных бласты н вых $4,0 \pm 2,0$ на 5000

Результаты исследований

Через 30 дней после вакцинации у морских свинок были выражены иммунологические сдвиги. Они проявлялись положительными туберкулиновыми пробами (площадь туберкулиновых реакций составляла $238,1 \pm 19,6$ мм²), РБТЛ с ФГА достоверно усилилась до $49,7 \pm 2,2$ % против $33,8 \pm 1,4$ % у интактных свинок ($p < 0,001$), число бластов в культурах с туберкулином достигало $8,2 \pm 0,6$ % (у интактных $0,6 \pm 0,4$ %, $p < 0,001$). Появлялись гемагглютинирующие антитела в низких титрах ($\log 2 = 1,6 \pm 0,5$).

Заражение вирулентными микобактериями приводило к дальнейшему усилению кожной туберкулиновой чувствительности (площадь кожных проб во II группе на 47-й день составила $353,0 \pm 32,6$ мм², $p < 0,02$), но интенсивность РБТЛ снижалась как в культурах с туберкулином (до $4,4 \pm 0,8$ %, $p < 0,01$), так и с ФГА (до $22,2 \pm 1,3$ %, $p < 0,001$). Уровень противотуберкулезных антител повышался до $5,0 \pm 0,8$ ($p < 0,05$). У животных, подвергнутых иммунотерапии (III группа), получавших изониазид (IV группа) или под влиянием сочетанного их воздействия (V группа) снижение бластного ответа лимфоцитов на ФГА было значительно меньшим ($30,4 \pm 4,5$, $35,0 \pm 5,2$ и $32,0 \pm 5,0$ % соответственно).

Только у морских свинок III группы РБТЛ с туберкулином оставалась высокой ($7,3 \pm 2,2$ %), а в IV и V группах снижалась соответственно до $5,3 \pm 1,0$ % ($p < 0,05$) и $5,7 \pm 0,6$ % ($p < 0,02$). Интенсивность кожных туберкулиновых реакций и титры противотуберкулезных гемагглютининов не отличались существенно от соответствующих показателей у животных II группы. Заражение вакцинированных животных на высоте развития противотуберкулезного иммунитета обусловило относительно доброкачественную динамику туберкулеза с тенденцией к хроническому течению. Изучение пораженности внутренних органов показало, что у морских свинок II группы степень ее ($29,6 \pm 7,7$ балла) была значительно более слабой, чем у зараженных без предварительной вакцинации животных [13]. Химиотерапия изониазидом (IV группа) мало изменяла пораженность внутренних органов (21,5 ± 2,3 балла). Введение аутологических активированных ФГА лимфоцитов (III группа) приводило к некоторому снижению индекса пораженности до $16,6 \pm 5,3$ ($p < 0,1$), сочетание их с изониазидом (V группа) способствовало почти полной ликвидации макроскопических очагов ($5,8 \pm 1,9$ балла, $p < 0,001$). В табл. 1 приведены индексы массы тимуса, селезенки и лимфатических узлов. Как видно из таблицы, иммунотерапия активированными ФГА аутологичными лимфоцитами с одновременным применением изониазида (V группа) обусловила снижение индекса массы тимуса и лимфатических узлов, отмечалась тенденция к уменьшению индекса массы селезенки. Изучение реакции плазматизации лимфоидных органов выявило различия и в клеточной структуре их.

В тимусе у морских свинок V группы резко снижалось число бластов ($11,7 \pm 2,1$ на 5000 клеток против $31,2 \pm 4,3$ у контрольных животных, $p < 0,01$). Это снижение было обусловлено стимулированными ФГА лимфоцитами, так как у животных получавших только изониазид (IV группа) число бластов было высоким ($29,8 \pm 7,6$). Применение только лимфоцитов (III группа) вызывало, наоборот, резкое увеличение числа бластов ($72,7 \pm 3,7$; $p < 0,001$).

Количество протимоцитов в тимусе было более высоким, чем у интактных животных, во всех опытных группах. Существенных различий в их числе, зависящих от способа лечения, не выявлено.

В селезенке контрольных зараженных животных (II группа) определялся невысокий уровень бластов ($3,7 \pm 1,6$ на 5000 клеток, у интактных бласты не выявлены), и $16,3 \pm 5,0$ пролимфоцитов (у здоровых $4,0 \pm 2,0$ на 5000 клеток).

ПЕЗА

пробле-
тоящее
гальных
и опре-
казали
ся вто-
е улуч-
воздей-
итогене-
ыдущих
ые про-

с онко-
ванных

Целью
юцитов,
сть ор-
са.

интактных
казателей

нологиче-
али виру-
едельной
область.
е группы
отерапии
г/кг с 15
фоне им-

аражения
ии 48 ч в
держашей
азрушали
физиоло-
раствора,
ть — 98—
нием.

боя (47-й
ые пробы
трансфор-
о [7].

в по [14]
ии по [5].
еских уз-
атических
ообразую-
четом мо-
0] и про-
ми вариа-

Таблица 1
Изменение индекса массы лимфоидных органов зараженных туберкулезом морских свинок под влиянием иммуно- и химиотерапии

Группы	Индекс массы ($\frac{\text{масса органа}}{\text{масса тела}} \times 1000$)			
	тимуса	селезенки	лимфатических узлов	
			регионарного (левого)	контралатерального (правого)
I	0,66±0,09	1,43±0,03	0,04±0,01	0,04±0,01
II	0,70±0,03	1,90±0,40	0,50±0,15 $p<0,001$ (I-II)	0,20±0,05 $p<0,02$ (I-II)
III	0,60±0,06	1,70±0,15	0,40±0,10	0,10±0,04
IV	0,82±0,05	1,53±0,10	0,13±0,02 $p<0,05$ (II-IV)	0,06±0,01 $p<0,05$ (II-IV)
V	0,54±0,06 $p<0,01$ (IV-V)	1,41±0,09	0,16±0,02 $p<0,05$ (II-V) (III-V)	0,04±0,01 $p<0,02$ (II-V)

Таблица 2
Содержание Е- и ЕАС-розеткообразующих клеток в лимфоидных органах и титр комплемента в сыворотке крови зараженных туберкулезом морских свинок, подвергнутых иммуно- и химиотерапии

Группы	Процентное содержание Е-РОК в				Процентное содержание ЕАС-РОК в			Титр комплемента (log 2)
	тимусе	селезенке	лимфатических узлах	костном мозге	селезенке	лимфатических узлах	костном мозге	
I	80,5 ±2,2	53,8 ±2,9	34,4 ±5,8	18,2 ±2,2	32,6 ±2,1	14,6 ±1,6	7,5 ±1,6	3,5 ±0,3
II	50,2 ±3,4 $p<0,001$ (I-II)	32,2 ±1,8 $p<0,001$ (I-II)	26,4 ±3,7	35,7 ±3,3 $p<0,01$ (I-II)	23,0 ±1,9	14,8 ±2,3	2,8 ±0,8	2,0 ±0,3 $p<0,001$ (I-II)
III	39,3 ±6,1	27,5 ±1,6	28,1 ±3,2	24,4 ±3,7	15,7 ±1,9 $p<0,05$ (II-III)	20,9 ±1,7	1,3 ±0,4	2,0 ±0,6
IV	70,8 ±2,4 $p<0,001$ (II-IV)	36,8 ±3,5	37,8 ±3,9	37,7 ±3,5	10,5 ±0,3 $p<0,001$ (II-IV)	9,3 ±1,6	3,7 ±0,6	4,5 ±0,2 $p<0,001$ (II-IV)
V	66,1 ±3,3 $p<0,01$ (II-V) (III-V)	30,8 ±2,0	39,2 ±4,5	17,3 ±3,5 $p<0,01$ (II-V)	15,8 ±0,5 $p<0,01$ (II-V) $p<0,001$ (IV-V)	11,3 ±2,6	3,5 ±0,6	4,0 ±0,3 $p<0,01$ (II-V) $p<0,02$ (III-V)

Содержание молодых и всех групп не отличалось мянутыми ранее низкими п внутренних органов свиде чении туберкулеза, благода

У морских свинок III г лезенке число бластов (5,6 (32,1±7,9) лишь незначи телок IV группы, получавших но более высокими: бласто 5000 клеток ($p<0,05$). При V группе характерного для ферации в селезенке не ($p<0,05$), а пролимфоциты

Цитологическая картина групп не имела статистиче чалась тенденция к ослабле свинок, подвергнутых комби

Изучение спонтанного (табл. 2) выявило, что экспе жению Е-розеткообразующи увеличению их в костном моз

Введение активированн дальнейшее умеренное сниж и костном мозге. Применени ниазида с активированными супрессорного эффекта, а, н ции числа Е-РОК в тимусе,

Содержание комплемент (табл. 2) также подвергалос терапии, однако статистичес лишь в селезенке, где урове более низким, чем у контрол лемент, значительно снижен вался до нормального уровня комбинированной иммунохими

Изучение гемограммы п II группы характерен нейтр ($\pm 2,4$ % лимфоцитов). Эти же свинок IV группы, получавш нейтрофильных лейкоцитов сн ($p<0,05$) при одновременном 58,5±8,3 и 56,6±1,4 % соотв ный подсчет мононуклеаров п групп отмечалось почти равн цитов. В IV группе число сре а малых — только 21,0±4,9 % ным: средних лимфоцитов 37 ($p<0,001$), появились единичн

Таким образом, наши дан ное введение стимулированны женным туберкулезом морски логических показателей. Это шением числа Т-клеток, сниже фоцитов с ФГА. В сочета изониазида активированные л ствия последнего. Воздействие цитов можно оценивать как 1 клеток-супрессоров способству

Содержание молодых и зрелых клеток плазматического ряда во всех группах не отличалось от показателей нормы, что наряду с упомянутыми ранее низкими показателями макроскопического поражения внутренних органов свидетельствовало об относительно нетяжелом течении туберкулеза, благодаря предшествующей вакцинации БЦЖ.

У морских свинок III группы, подвергнутых иммунотерапии, в селезенке число бластов ($5,6 \pm 2,8$ на 5000 клеток) и пролимфоцитов ($32,1 \pm 7,9$) лишь незначительно превышало данные II группы; у свинок IV группы, получавших изониазид, эти показатели были достоверно более высокими: бластов $14,0 \pm 3,5$, пролимфоцитов — $44,6 \pm 9,1$ на 5000 клеток ($p < 0,05$). При комбинации химио- и иммунотерапии в V группе характерного для IV группы усиления лимфоидной пролиферации в селезенке не наблюдалось: бласты составили $3,3 \pm 2,5$ ($p < 0,05$), а пролимфоциты — $14,2 \pm 3,9$ на 5000 клеток ($p < 0,02$).

Цитологическая картина лимфатических узлов у животных всех групп не имела статистически достоверных различий, однако отмечалась тенденция к ослаблению лимфоидной пролиферации у морских свинок, подвергнутых комбинированному воздействию (V группа).

Изучение спонтанного и комплементарного розеткообразования (табл. 2) выявило, что экспериментальный туберкулез приводит к снижению Е-розеткообразующих клеток (Е-РОК) в тимусе, селезенке и увеличению их в костном мозге.

Введение активированных лимфоцитов (III группа) вызывает дальнейшее умеренное снижение уровня Е-РОК в тимусе, селезенке и костном мозге. Применение только изониазида (IV группа) или изониазида с активированными лимфоцитами (V группа) не оказывало супрессорного эффекта, а, наоборот, способствовало даже нормализации числа Е-РОК в тимусе, лимфатических узлах и костном мозге.

Содержание комплементарных розеток в лимфоидных органах (табл. 2) также подвергалось изменениям в процессе иммуно- и химиотерапии, однако статистическая значимость различий наблюдалась лишь в селезенке, где уровень ЕАС-РОК в III, IV и V группах был более низким, чем у контрольных зараженных животных. Титр компонента, значительно сниженный во II группе (табл. 2) восстанавливался до нормального уровня только при применении изониазида или комбинированной иммунохимиотерапии.

Изучение гемограммы показало, что для контрольных животных II группы характерен нейтрофилез ($54,2 \pm 5,0$ % нейтрофилов, $39,2 \pm 2,4$ % лимфоцитов). Эти же показатели были сходными и у морских свинок IV группы, получавших изониазид. В III и V группах число нейтрофильных лейкоцитов снижалось до $37,7 \pm 8,1$ и $39,6 \pm 1,3$ % ($p < 0,05$) при одновременном увеличении количества лимфоцитов до $58,5 \pm 8,3$ и $56,6 \pm 1,4$ % соответственно ($p < 0,02$). Дифференцированный подсчет мононуклеаров по [8] показал, что у животных II и III групп отмечалось почти равное соотношение малых и средних лимфоцитов. В IV группе число средних лимфоцитов составило $79,0 \pm 4,9$ %, а малых — только $21,0 \pm 4,9$ %. В V группе соотношение было обратным: средних лимфоцитов $37,0 \pm 6,5$ ($p < 0,001$), малых — $62,4 \pm 6,0$ %; ($p < 0,001$), появились единичные большие лимфоциты.

Таким образом, наши данные позволяют заключить, что двукратное введение стимулированных ФГА аутологических лимфоцитов зараженным туберкулезом морским свинкам вызывает изменение иммунологических показателей. Это действие проявляется умеренным уменьшением числа Т-клеток, снижением реакции бласттрансформации лимфоцитов с ФГА. В сочетании с антибактериальным действием изониазида активированные лимфоциты способствуют усилению действия последнего. Воздействие активированных *in vitro* ФГА лимфоцитов можно оценивать как мягкое иммунодепрессивное. Появлению клеток-супрессоров способствует относительно короткий срок культи-

вирования (48 ч), а также неспецифическое воздействие на лимфоциты компонентов питательной среды, в частности, сыворотки крупного рогатого скота [16].

Супрессорное действие вводимых клеток нивелирует дисбаланс в иммунной системе организма, обусловленный как воздействием микобактерий, так и химиопрепаратов, способствуя таким образом адекватности защитных реакций и большей эффективности процессов сано-генеза. Под влиянием активированных лимфоцитов уменьшается выраженность лимфоидной пролиферации в тимусе, селезенке и лимфатических узлах морских свинок, получавших изониазид. Вполне вероятно, что по этому же механизму происходит уменьшение инфильтративных явлений в очагах поражения, чем облегчается доступ химиопрепарата к микобактериям, повышается его антибактериальная эффективность, ускоряются процессы обратного развития туберкулезных очагов.

Выводы

1. Лимфоциты, активированные ФГА *in vitro*, оказывают умеренное супрессорное влияние на иммунологические показатели вакцинированных зараженных туберкулезом животных. Это влияние проявляется снижением количества Е-РОК в тимусе и костном мозге, а также числа ЕАС-РОК в селезенке, нормализацией формулы крови, уменьшением выраженности пролиферативной реакции в лимфоидных органах и, очевидно, в зоне туберкулезных очагов.

2. Сочетанное применение активированных лимфоцитов и малых доз изониазида (3 мг/кг) оказывает выраженный терапевтический эффект на течение экспериментального туберкулеза.

A. A. Chumak, E. F. Chernushenko

IMMUNOTHERAPY OF EXPERIMENTAL TUBERCULOSIS IN GUINEA PIGS

Summary

Immunomodulating activity of autologous lymphocytes stimulated by PHA *in vitro* was studied in guinea pigs infected with tuberculosis mycobacteria strain H₃₇Rv a month after the BCG vaccination. A slight immunosuppression caused by stimulated lymphocytes in guinea pigs treated with isoniazide decreased the number of E-rosette-forming cells (RFC) in the thymus and bone marrow, the EAC-FEC amount in the spleen, significantly lowered the lymphoproliferating activity in the thymus, spleen and lymph nodes and, possibly, in the foci of tuberculous lesions and significantly increased antimycobacterial effect of isoniazide.

Institute of Tuberculosis and Thoracic Surgery

Список литературы

1. Авербах М. М., Поберий И. А., Ульянов М. И., Линднер Д. П. Структура органов иммунитета при локальном экспериментальном туберкулезе легких у кроликов.— Пробл. туберкулеза, 1979, № 8, с. 52—55.
2. Авербах М. М. Иммунологические аспекты легочной патологии.— М.: Медицина, 1980.— 280 с.
3. Говалло В. И. Иммунитет к трансплантатам и опухолям.— Киев: Вища школа, 1977.— 320 с.
4. Гурвич Г. А. К методике цитосерологического исследования лимфоидной ткани.— В кн.: Зродовский П. Ф. Проблемы инфекции, иммунитета и аллергии. М.: Медицина, 1969, с. 322—325.
5. Дробикина Р. О. Микробиология туберкулеза.— М.: Госмедиздат, 1963.— 255 с.
6. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте.— Киев: Вища школа, 1974.— 303 с.
7. Копелян И. И., Григорьева М. П. Разработка микромодификаций культивирования клеток крови человека.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1972, № 8, с. 119—122.
8. Коробанов В. Р. О лимфоидно-лейкоцитарном составе крови в клинике и диагностике бактериальных и вирусных менингитов и менингитов и менингоэнцефалитов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Киев, 1969.— 163 с.

9. Костромина В. П. Клинико-иммунологические аспекты специфических заболеваний л. наук.— Киев, 1980.— 43 с.
10. Чернушенко Е. Ф., Когосова Л. И. Пробл. туберкулеза, 1978.— 159 с.
11. Чернушенко Е. Ф., Когосова Л. И. Пробл. туберкулеза, 1979, № 1, с. 1—5.
12. Чернушенко Е. Ф., Чумак А. А. Пробл. туберкулеза, 1979, № 1, с. 1—5.
13. Чумак А. А. Влияние бекотидов на реактивность морских свинок, зараженных туберкулезом.— Пробл. туберкулеза, 1979, № 1, с. 1—5.
14. Michie D. A simple method for the isolation of lymphocytes from guinea pigs. In: Handbook of Experimental Immunology, 1977, 33, N 4, p. 1—5.
15. Middlebrook G. M., Dubos R. The use of guinea pigs in the study of tuberculosis. In: Immunology, 1977, 33, N 4, p. 1—5.
16. Rarish C. R. Appearance of new antigens in the immune response of guinea pigs with evidence for a release of antigens from the site of infection. Arch. Allergy Appl. Immunol., 1977, 33, N 4, p. 1—5.

Киевский институт туберкулеза и грудной хирургии

Выписывайте, читайте

Это единственный в Советском Союзе журнал по проблемам физиологии. На его страницах освещаются проблемы общей физиологии, физиологии систем и центров, нервных механизмов, морфологии и моделирования. Статьи печатаются на русском языке. Журнал рассчитан на специалистов в области физиологии, невропатологии, психиатрии, ботаники высших учебных заведений.

Выходит раз в два месяца.

Подписная цена: годовая—7 руб.

на полугодие—4 руб.

Цена одного выпуска—1 руб.

Подписаться на «Нейрофизиологию» можно по месту работы, по почте.

Индекс журнала 70629.

юциты
го ро-
ианс в
мико-
адек-
сано-
я вы-
пимфа-
веро-
шение
доступ
льная
кулез-

мерен-
кцини-
оявля-
а так-
умень-
их ор-

малых
ий эф-

IGS

in vitro
month
phocy-
ig cells
ficantly
es and,
arterial

органов
нков.—

дицина,
школа,

кани.—
едици-

с.
азведе-
—303 с.
ювания
119—

гности-
ов: Ав-

9. Костромина В. П. Клинико-иммунологические исследования при туберкулезе и неспецифических заболеваниях легких у детей и подростков: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— Киев, 1980.— 43 с.
10. Чернушенко Е. Ф., Когосова Л. С. Иммунологические исследования в клинике.— Киев: Здоров'я, 1978.— 159 с.
11. Чернушенко Е. Ф., Когосова Л. С., Петрашенко А. И., Шапошник Е. Н. Количественная и функциональная характеристика Т и В-систем иммунитета при туберкулезе.— Пробл. туберкулеза, 1979, № 11, с. 64—69.
12. Чернушенко Е. Ф., Чумак А. А. Влияние фитогемагглютинина на иммунологическую реактивность морских свинок.— Физиол. журн., 1979, 25, № 6, с. 684—687.
13. Чумак А. А. Влияние бекотида на иммунологическую реактивность морских свинок, зараженных туберкулезом.— Пробл. туберкулеза, 1980, № 7, с. 57—60.
14. Michie D. A simple method for estimation of total lymphoid organs proliferation.— In: Handbook of Experimental Immunology. Blackwell; Oxford, 1967, p. 969—970.
15. Middlebrook G. M., Dubos R. Specific serum agglutination of erythrocytes sensitized with extracts of tubercle bacilli.— J. Exp. Med., 1948, 88, N 4, p. 521—529.
16. Rarish C. R. Appearance of nonspecific suppressor T cells during in vitro culture.— Immunology, 1977, 33, N 4, p. 597—603.
17. Sandberg G., Söder O., Ernsröm 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
22.X 1980 г.

Выписывайте, читайте журнал „Нейрофизиология“

Это единственный в Советском Союзе журнал, который полностью посвящен вопросам нейрофизиологии. На его страницах публикуются оригинальные работы, освещающие проблемы общей физиологии нервной системы, физиологии нервных сетей и центров, нервных механизмов регуляции системных функций, функциональной морфологии и моделирования функций нервной системы.

Статьи печатаются на русском языке с резюме, подписями к рисункам и таблицам на английском языке.

Журнал рассчитан на специалистов-нейрофизиологов, исследователей в области физиологии, невропатологии, фармакологии, кибернетики, бионики, а также работников высших учебных заведений соответствующих профилей, аспирантов и студентов.

Выходит раз в два месяца.

Подписная цена: годовая—7 руб. 80 коп.,

на полугодие—3 руб. 90 коп.

Цена одного экземпляра—1 руб. 30 коп.

Подписаться на «Нейрофизиологию» можно в городских и районных агентствах «Союзпечати», отделения связи, а также у общественных распространителей печати по месту работы.

Индекс журнала 70629.

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКОВА ДУМКА»

УДК 615.365:616—092.4.9

Л. И. Барченко

РАННЯЯ РЕАКЦИЯ КЛЕТОК-МИШЕНЕЙ НА ДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ ДОЗ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ

Хотя возможность стимуляции жизнедеятельности клеток с помощью малых доз специфических антител в настоящее время общепризнана, однако детали механизма стимулирующего действия антител выяснены недостаточно. Следует отметить, что уловить структурные изменения в клетках на начальном этапе действия малых доз антител при использовании обычных морфологических методов исследования крайне трудно, чем, видимо, и объясняется отсутствие литературных данных по этому вопросу. Мы поставили задачу выявить эти изменения на субклеточном уровне, используя методы электронной микроскопии и цитохимии.

Методика исследований

Исследования проведены на клетках культур тканей, что давало возможность непосредственно наблюдать реакцию клеток на действие антител в определенные промежутки времени.

Ткани семенника крыс 4—5 мес возраста культивировали во флаконах Карреля на питательной среде, состоящей из раствора Тироде, плазмы крови гуся и эмбрионального экстракта. Использовали семи-восьмисуточные культуры тканей семенника крыс с хорошо развитой зоной роста.

Антитестиккулярную цитотоксическую сыворотку (АТЦС), содержащую антитела, специфичные к клеткам семенника, получали посредством иммунизации кроликов водно-солевым экстрактом ткани семенника крыс. Кроме сыворотки к цельной ткани органа были получены цитотоксические сыворотки к митохондриальной и микросомной фракциям клеток семенника. Митохондриальную фракцию выделяли по [24] в модификации [22]. Микросомную фракцию клеток семенника крыс выделяли по [21]. Степень чистоты выделенной фракции проведена электронной микроскопией срезов осадка микросом. При иммунизации животных митохондриальной и микросомной фракциями количество вводимого антигена рассчитывали по содержанию белка в 1 мл гомогената. Количество белка определяли по методу Лоури. Титр антител цитотоксических сывороток устанавливали в реакции связывания комплемента. В исследованиях использованы сыворотки с титрами 1:320—1:400. В контрольных опытах использована сыворотка крови неиммунизированного кролика (НКС). Сыворотки вводили в жидкую питательную среду культур в дозе 0,01—0,05 % от количества питательной среды или 0,002—0,003 мг белка сыворотки в 1 мл питательной среды. Флаконы с культурами помещали в термостат при 37 °C, и затем культуры фиксировали через 1, 3, 6, 24, 48 и 72 ч. Часть культур оставляли интактными.

Для электронномикроскопических исследований тотальные препараты культур фиксировали последовательно глутаральдегидом и 1 % раствором осмиевой кислоты, забуференной фосфатным буфером до pH 7,3, проводили через спирты и ацетон и заключали в эпоксидную смолу аралдит-М. Выбор подходящего участка для приготовления ультратонких срезов определяли путем предварительного изучения полутонких срезов, полученных с больших участков зоны роста культур и окрашенных 1 % раствором парафенилендиамина. Срезы для электронной микроскопии толщиной — 60—80 нм делали на ультрамикротоме LKB-8800 и контрастировали цитратом свинца по [23]. Просмотр и фотографирование препаратов осуществляли с помощью электронного микроскопа высокого разрешения (Tesla BS-613).

Выявление локализованного в митохондриях фермента сукцинатдегидрогеназы для световой микроскопии проводили по методу Нахласа [5] с использованием в качестве акцептора водорода соли тетразолия нитро-СТ. Контроль на специфичность гистохимической реакции осуществляли в двух вариантах: 1) с исключением из инкубационной среды специфического субстрата, 2) в присутствии специфического ингибитора реакции — малоновой кислоты. Активность сукцинатдегидрогеназы определяли по средней величине активности фермента в одной клетке в условных единицах [18]. Витальную окраску клеток нейтральным красным проводили по [18].

Результаты и

Проведенные исследования (стимулирующих) доз специфических антител в клетках развиваются на субклеточном уровне, затрагивающих в т



Рис. 1. Расширение и истончение матической сети через митохондрии.
а — контроль, б — опыт; Я — ядро, ПЭС — плазматическая сеть.

структуры, но в большей степени — лизосомный аппарат клеток.

Основным объектом исследования были зоны роста культур, состоящие из отдельных элементов семенника. Крупное овальное ядро с развитыми полостями гранулярной цитоплазмы наиболее четкоมองเห็น. Эктоплазматическая зона плазматической сети. Митохондрии — длинные, с хорошо разл

Результаты исследований и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что при действии малых (стимулирующих) доз специфических антител в первые часы и сутки в клетках развивается на субклеточном уровне ряд своеобразных изменений, затрагивающих в той или иной степени все внутриклеточные

ТЕЛ

с с по-
бщепри-
тел вы-
е изме-
тел при
крайне
данных
ения на
копии и

ность не-
е проме-

Карреля
риональ-
ика крыс

антитела,
зв водно-
и органа
ой фрак-
ификации
нь чисто-
микросом.
оличество
оличество
с установ-
сыворотки
юви неим-
ую среду
3 мг белка
термостат
культуры

ьтур фик-
оты, забу-
заклучали
ия ультра-
зов, полу-
м парафе-
делали на
росмотр и
скопа вы-

еназы для
в качестве
гистохими-
бационной
гора реак-
ю средней
Витальную

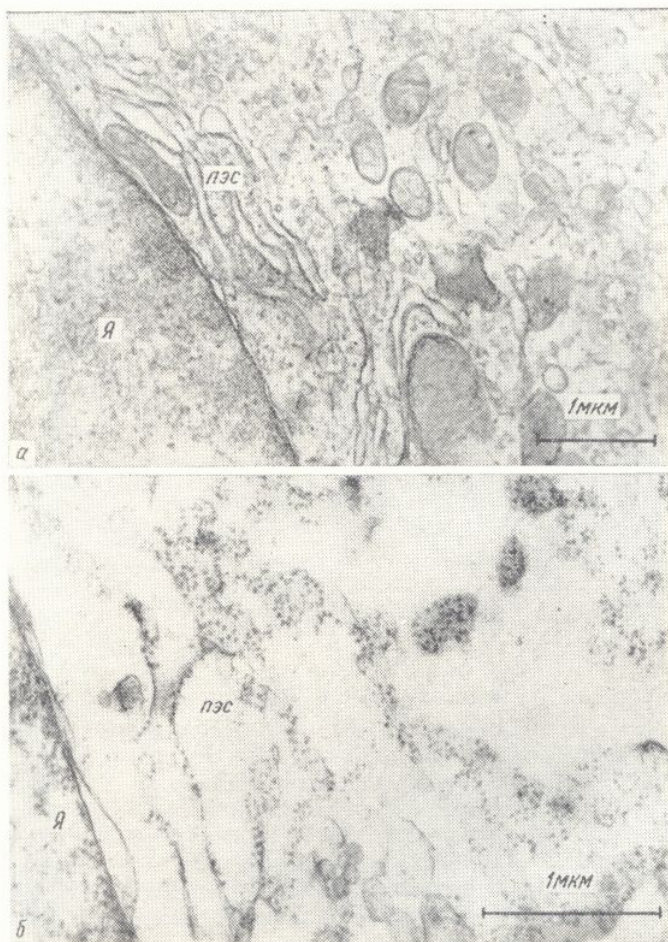


Рис. 1. Расширение и частичное разрушение полостей эндоплазматической сети через 1 ч после воздействия малой дозы анти-микросомной АТЦС.

а — контроль, б — опыт; Я — ядро, пэс — полости эндоплазматической сети.

структуры, но в большей степени эндоплазматическую сеть, митохондрии, лизосомный аппарат клетки и комплекс Гольджи.

Основным объектом исследования служили эпителиоидные клетки зоны роста культур, которые являются производными специализированных элементов семенника. Эти клетки имеют полигональную форму. Крупное овальное ядро содержит одно-два ядрышка. Хорошо развитые полости гранулярной эндоплазматической сети в интактных клетках наиболее четко можно наблюдать лишь в перинуклеарной зоне. Эктоплазматическая зона клетки содержит мало структур эндоплазматической сети. Митохондрии в клетках этого типа тонкие, продолговатые, с хорошо различимыми кристами и матриксом умеренной

электронной плотности. Комплекс Гольджи расположен в перинуклеарной зоне. Его размеры и соотношение трех составных компонентов — цистерн, вакуолей и микропузырьков — варьируют в интактных клетках незначительно.

Через 1 ч после контакта клеток с антителами как АТЦС, так и антимицросомной АТЦС в клетках наблюдается расширение поло-

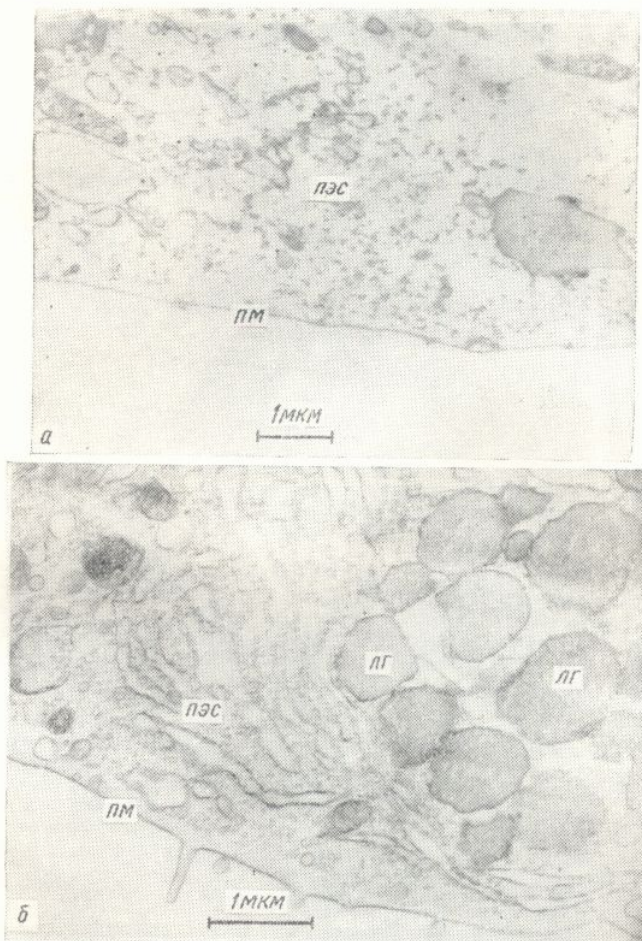


Рис. 2. Развитие полостей эндоплазматической сети в эктоплазматической зоне клетки через 6 ч после воздействия антимицросомной АТЦС.

а — контроль, б — опыт; ЭПС — полости эндоплазматической сети, ПМ — плазматическая мембрана, ЛГ — липидная гранула.

стей эндоплазматической сети. Внутреннее содержимое полостей электроннопрозрачно. В этот период можно наблюдать своеобразную картину, когда мембраны эндоплазматической сети исчезают, а оставшиеся по краям расширенных полостей рибосомы располагаются цепочками, повторяя контуры полостей. Этот процесс в большей степени выражен при действии антимицросомной АТЦС. На рис. 1, а представлена перинуклеарная зона клетки контрольной культуры, а на рис. 1, б показано расширение и частичное разрушение полостей эндоплазматической сети через 1 ч после воздействия малой дозы антимицросомной АТЦС. Через 3 ч расширение полостей эндоплазматической сети выражено в гораздо меньшей степени, чем при наблюдении через 1 ч, а через 24 и 48 ч, как правило, не встречается сов-

сем. Через 6 ч после начала клеток можно наблюдать в доплазматической сети. В т. ные, хорошо различимые в ниях рибосомы. Нередко в ленном порядке, как бы в. Для сравнения на рис. 2, а контрольной культуры. В 48 и 72 ч в клетках прод гранулярной эндоплазматич

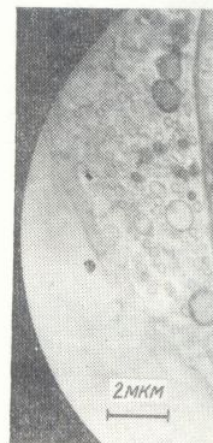


Рис. 3. Ядро клетки

Смещение ядрышек к периферии ядра.

при действии антимицросомных культур можно наблюдать узкими длинными канальцами на наружной поверхности. В культуре такой картины не наблюдается. Через 48 и 72 ч наблюдения занимающие краевое положение.

Отчетливая реакция на воздействие антител со стороны лизосомного аппарата. В комплексе Гольджи с ним комплекса Гольджи не выявлено. В нашей предыдущей работе [1] приведены лишь обобщенные данные, полученные в результате изучения происходящих в клетке изменений при действии антител в цитоплазме. Отчетливая реакция антител на лизосомы, которые на основании электронной микроскопии можно идентифицировать как лизосомы. Антитела активны в отношении лизосомальной фосфатазы, активность которой была повышена как в контрольной, так и в культуре клеток, обработанных антителами. Кроме того, наблюдалось увеличение активности кислой рибонуклеазы, также лизосомального фермента. В последние сроки наблюдения отставания лизосом разных типов, в которых остались различные внутриклеточные структуры. Антитела состояли преимущественно из

инукле-
мпонен-
гактных

ДС, так
полос-

сем. Через 6 ч после начала воздействия антител в цитоплазме многих клеток можно наблюдать новообразование канальцев гранулярной эндоплазматической сети. В таких участках всегда сосредоточены крупные, хорошо различимые даже при сравнительно небольших увеличениях рибосомы. Нередко цепочки рибосом располагаются в определенном порядке, как бы воссоздавая форму канальцев (рис. 2, б). Для сравнения на рис. 2, а представлен аналогичный участок клетки контрольной культуры. В последующие сроки наблюдения через 24, 48 и 72 ч в клетках продолжается интенсивное развитие структур гранулярной эндоплазматической сети. Особенно усилен этот процесс

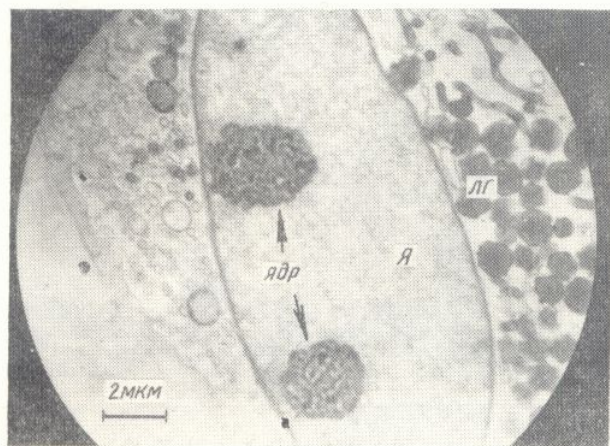


Рис. 3. Ядро клетки через 48 ч после воздействия малой дозы АТЦС.

Смещение ядрышек к ядерной мембране. Я — ядро, ядр — ядрышко, ЛГ — липидные гранулы.

при действии антимицросомной АТЦС. В некоторых клетках подопытных культур можно наблюдать участки цитоплазмы, целиком заполненные узкими длинными канальцами с большим количеством рибосом на наружной поверхности. В клетках контрольных и интактных культур такой картины не наблюдается. Ядра клеток подопытных культур через 48 и 72 ч наблюдения часто имеют крупные рыхлые ядрышки, занимающие краевое положение возле ядерной оболочки (рис. 3).

Отчетливая реакция на действие малых доз антител наблюдается со стороны лизосомного аппарата клетки и функционально связанного с ним комплекса Гольджи. Более полно этот материал представлен в нашей предыдущей работе [3], поэтому здесь будут изложены лишь обобщенные данные, необходимые для понимания общей картины происходящих в клетке изменений. Через 1 ч после начала действия антител в цитоплазме появляется большое количество образований, которые на основании структурных и цитохимических данных можно идентифицировать как прелизосомы, содержащие, возможно, линоцитированный материал. В первые часы после начала воздействия антител активность характерного для лизосом фермента кислой фосфатазы была повышена как в лизосомах, так и в зоне комплекса Гольджи. Кроме того, наблюдалось усиление активности фермента кислой рибонуклеазы, также локализованного в лизосомах. В дальнейшие сроки наблюдения обнаружено увеличение в клетках количества лизосом разных типов, в том числе много аутофагосом, содержащих остатки различных внутриклеточных структур. Изменения в строении комплекса Гольджи в процессе развития реакции антиген — антитело состояли преимущественно в увеличении размеров и количе-

и элек-
ю кар-
остав-
ся це-
степе-
пред-
а на
лостей
зы ан-
лазма-
наблю-
я сов-

ства отдельных составных элементов этого органоида и повышении активности локализованного в нем фермента тиаминпирофосфатазы.

Одним из наиболее лабильных органоидов клетки, в первую очередь реагирующих на различные воздействия, являются митохондрии. На электроннограммах клеток через 1 и 3 ч после воздействия малых доз антител можно наблюдать три типа митохондрий. Наряду с митохондриями, наиболее характерными для клеток этого вида — тонкими,

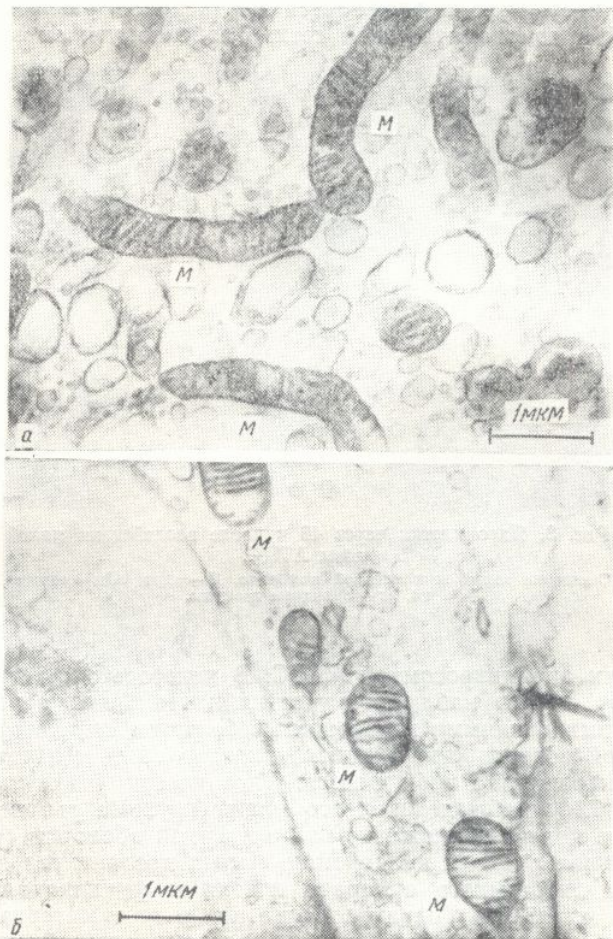


Рис. 4. Появление округленных митохондрий через 1 час после воздействия малой дозы АТЦС.
а — контроль, б — опыт; м — митохондрия.

продолговатыми, с матриксом умеренной электронной плотности, такими как показано на рис. 4, а в клетках контрольной культуры, встречается приблизительно 20—30 % митохондрий своеобразного вида. Эти митохондрии короче и толще обычных, иногда почти шарообразной формы, что могло бы вызвать предположение об их набухании и повреждении. Но при этом они сохраняют на фоне электроннопрозрачного матрикса четкие, правильные кристы (рис. 4, б). По данным ряда авторов [2, 4, 12, 13], в митохондриях подобного типа наблюдается разобщение окисления и фосфорилирования, низкая активность сукцинатдегидрогеназы и низкая скорость синтеза белка. Такое состояние митохондрий может свидетельствовать и о повышенном высвобождении

АТФ в цитоплазму [1]. Приток в небольшом количестве хондрии явно дегенеративными. Через 6 ч и в последующих от нормы в структуре

Для того чтобы иметь наглядное представление о состоянии митохондрий



Рис. 5. Снижение активности митохондрий через 1 ч после воздействия малой дозы АТЦС.

Реакция по Нахласу.

проведено исследование активности митохондрий окислительных ферментов. Проведено две серии исследований и две серии исследований, к цельной ткани с антимитохондриальными антителами. Представлены в таблице данные о ферментной активности в одной клетке. В течение первых 3 ч после воздействия антител наблюдалось снижение активности

ышении
тазы.
ую оче-
ондрии.
малых
с мито-
онками,

АТФ в цитоплазму [1]. При наблюдении через 3 ч в цитоплазме клеток в небольшом количестве, но чаще чем в норме, встречаются митохондрии явно дегенеративного типа — набухшие, с разрушенными кристами. Через 6 ч и в последующие сроки наблюдения каких-либо отклонений от нормы в структуре митохондрий нет.

Для того чтобы иметь возможность косвенно судить о функциональном состоянии митохондрий, методом световой микроскопии было

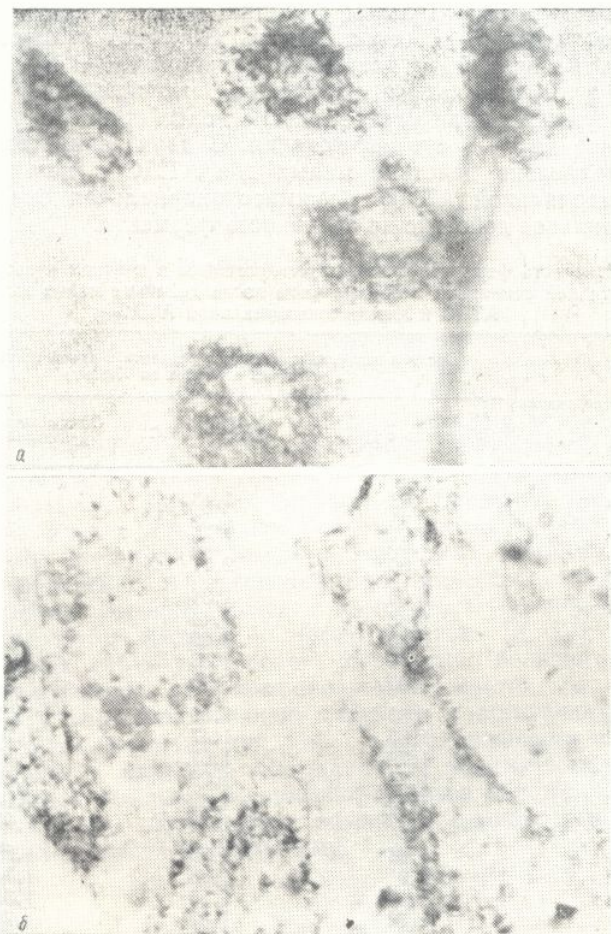


Рис. 5. Снижение активности сукцинатдегидрогеназы через 1 ч после воздействия малой дозы антимитохондриальной АТЦС.

Реакция по Нахласу. Ок. 20×Об. 40, а — контроль, б — опыт.

и, та-
и, встре-
да. Эти
бразной
и и по-
розрач-
им ряда
одается
сукци-
стояние
ждении

проведено исследование активности одного из локализованных в митохондриях окислительных ферментов — сукцинатдегидрогеназы. Проведено две серии исследований с использованием АТЦС к цельной ткани и две серии исследований, в которых сравнивалось действие АТЦС к цельной ткани с антимитохондриальной АТЦС. Данные этих исследований представлены в таблице. Приведенные в ней величины активности фермента в одной клетке являются средними, полученными путем учета активности в 400 клетках каждой опытной группы культур. В течение первых 3 ч после начала содействия малых доз антител наблюдалось снижение активности сукцинатдегидрогеназы, что отража-

ют представленные в таблице в условных единицах средние величины активности фермента в клетках. В большинстве клеток гранулы диформазана становятся мелкими, пылевидными, бледно окрашенными и располагаются по периферии клетки (рис. 5). В то же время можно было наблюдать своеобразную картину вариабельности уровня активности фермента в разных клетках. Среди участков зоны роста со сниженной активностью фермента встречались отдельные клетки или группы клеток с высокой активностью. Это явление, вероятно, можно объяснить компенсаторным усилением функции клеток в ответ на действие цитотоксинов. Через 6—12 ч активность фермента полностью восстанавливается, а через 24 ч повышена в сравнении с контролем. Как показали результаты наших дальнейших исследований, повышение активности сукцинатдегидрогеназы после воздействия малых доз антител еще выше на 7—8 сут наблюдения. В двух сериях опытов испытывали параллельно действие малых доз АТЦС к цельной ткани и антимиохондриальной АТЦС. Антимиохондриальная сыворотка оказала более сильное действие на активность фермента.

Активность фермента сукцинатдегидрогеназы в клетках культур тканей семенника в первые часы после действия малых доз АТЦС и антимиохондриальной АТЦС

Срок исследования	Средняя величина активности фермента в одной клетке (в условных единицах по Кэпелу)		
	Контроль с НКС	Опыт с АТЦС	Опыт с антимиохондриальной АТЦС
30 мин	1,63	1,43	
1 ч	1,75	1,52	
6 ч	1,83	1,92	
24 ч	1,89	2,11	
30 мин	1,90	1,34	
1 ч	1,88	1,44	
3 ч	1,86	1,89	
12 ч	1,86	1,83	
24 ч	1,90	2,10	
30 мин	1,83	1,59	1,21
1 ч	1,87	1,47	1,18
3 ч	1,79	1,67	1,47
6 ч	1,78	1,79	1,68
12 ч	1,78	1,82	1,74
24 ч	1,77	1,83	1,81
30 мин	1,84	1,75	1,56
1 ч	1,91	1,63	1,33
3 ч	1,82	1,70	1,31
6 ч	1,82	1,87	1,74
12 ч	1,86	1,89	1,88
24 ч	1,83	2,06	2,12

О некотором угнетении жизнедеятельности клеток в первые часы действия малых доз антител свидетельствуют и данные, полученные при витальной окраске клеток нейтральным красным. В первые 3 ч после воздействия малой дозы АТЦС образование гранул витального красителя было ослаблено, гранулы бледно окрашены. Иногда наблюдалась концентрация витального красителя только в зоне расположения комплекса Гольджи. Однако розовой окраски цитоплазмы, что могло бы свидетельствовать о паранекротическом состоянии клеток, мы не наблюдали.

Анализ полученных нами данных показывает, что в первые 3 ч после воздействия на клетки малых доз специфических антител наступает кратковременный период нерезкого угнетения жизнедеятельности клеток. Об этом свидетельствуют как структурные изменения эндо-

плазматической сети и натдегидрогеназы и снижении активности нейтрального красителя. В состоянии антител-цитотоксинов. Мы наблюдали, что отдаленно бурно, гибнут. Механизма действия цитотоксинов малой дозы сыворотки, и продукты их распада, и продукты жизнедеятельности современных данных ясно, что происходит не так, как в лизисе эритроцитов. В сложной многообразной структуре востепенное значение в аппарате клетки и комплекс действия антител активности принадлежит важная роль комплекса Гольджи, которм и снабжении их гидролизом как защитного и воздействия, в том числе оставшихся жизнеспособных жизнедеятельности начинать как репаративную функцию повышением жизнеспособности этого процесса явлением погибших клеток, но и культур, а также диссоциации способствует обновлению и соединений. Высвобождение вновь используются клеточного строения новых структур белка. Действительно, на этот период интенсивное действие белка — эндоплазматический рибосомы, и ядрышки, становятся рыхлыми мембраны, что наблюдается при РНК из ядрышка в

AN EARLY RESPONSE OF LOW

Cell response in the first hours of action is studied on a model of cytochemistry methods. It is shown that work, mitochondria, lysosomes are affected at the subcellular level. During the effect on cells there comes a stage of intracellular regeneration, which is a reparative intracellular regeneration action on particular intracellular antibodies with a preferential spe-

величины
и диффор-
ми и рас-
кно было
тивности
снижен-
и группы
ю объяс-
действие
восста-
тем. Как
вышение
из анти-
ов испы-
тани и
тка ока-

плазматической сети и митохондрий, так и снижение уровня сукцинатдегидрогеназы и снижение гранулообразования при витальной окраске нейтральным красным. Таким образом, в этот период клетки находятся в состоянии своеобразного стресса, вызванного действием антител-цитотоксинов. При электронномикроскопических исследованиях мы наблюдали, что отдельные клетки, где этот процесс развивается особенно бурно, гибнут. А. А. Богомолец [6, 7] разработал теорию механизма действия цитотоксинов, согласно которой при введении малой дозы сыворотки повреждается незначительное количество клеток, и продукты их распада становятся физиологическими стимуляторами жизнедеятельности других клеток этого органа или ткани. В свете современных данных ясно, что гибель находящихся в составе ткани клеток происходит не так, как это представляли себе раньше по аналогии с лизисом эритроцитов под влиянием гемолизина, а в результате сложной многообразной реакции внутриклеточных структур, первоочередное значение в которой принадлежит, видимо, лизосомному аппарату клетки и комплексу Гольджи. В первые же часы начала воздействия антител активируется лизосомный аппарат, которому принадлежит важная роль в защитных реакциях клетки [11, 14—17], и комплекс Гольджи, который принимает участие в формировании лизосом и снабжении их гидролитическими ферментами [19]. Деятельность лизосом как защитного аппарата клетки активизируется при различных воздействиях, в том числе и при иммунных реакциях [20]. В клетках, оставшихся жизнеспособными, наряду с быстрым восстановлением жизнедеятельности начинаются процессы, которые можно охарактеризовать как репаративную внутриклеточную регенерацию, сопровождающуюся повышением жизнедеятельности клеток. Побудительной причиной этого процесса являются не только продукты распада белка погибших клеток, но и частичное повреждение внутриклеточных структур, а также диссоциация макромолекулярных комплексов, что способствует обновлению и повышению биохимической активности белковых соединений. Высвободившиеся компоненты белковых соединений вновь используются клеткой в обмене веществ [8, 10]. Процесс построения новых структур требует выработки большого количества белка. Действительно, на электронограммах клеток мы наблюдаем в этот период интенсивное развитие структур, участвующих в биосинтезе белка — эндоплазматической сети с расположенными на ее мембране рибосомами, и ядрышек. Последние во многих клетках укрупняются, становятся рыхлыми и занимают краевое положение возле ядерной мембраны, что наблюдается обычно в период активного транспорта РНК из ядрышка в цитоплазму.

L. I. Barchenko

AN EARLY RESPONSE OF TARGET CELLS TO THE EFFECT OF LOW SPECIFIC ANTIBODY DOSES

Summary

Cell response in the first hours and days after an outset of a low specific antibody dose action is studied on a model in a testis tissue culture by electron microscopy and cytochemistry methods. It is shown that a series of alterations in the endoplasmatic network, mitochondria, lysosomic cell apparatus and Golgi complex, in the first turn, occur at the subcellular level. During the first three hours after a low specific antibody dose effect on cells there comes a short-time period of nonsharp reversible destruction of intracellular structures, which, parallel with other factors, is a stimulating reason for reparative intracellular regeneration accompanied by a cell viability promotion. A directed action on particular intracellular structures may be intensified by application of antibodies with a preferential specificity for these structures.

ые часы
ученные
ые 3 ч
ального
наблю-
положе-
мы, что
клеток,
ые 3 ч
и насту-
льности
я эндо-

Список литературы

1. Авцын А. П., Шахламов В. А. Ультраструктурные основы патологии клетки.— М.: Медицина, 1979.— 316 с.
2. Бакеева Л. Е., Ясайтис А. А. Взаимосвязь ультраструктуры митохондрий с их функциональным состоянием.— В кн.: Материалы IX Всесоюз. конф. по электрон. микроскопии, 29 окт.— 2 нояб. 1973 г. Тбилиси. М.: Наука, 1973, с. 383—384.
3. Барченко Л. И. Электронномикроскопическое и цитохимическое изучение первичной реакции лизосом и комплекса Гольджи на действие малых доз специфических антигенов.— Физиол. журн., 1979, 25, № 6, с. 715—723.
4. Бекетова Т. П. Об анализе функции митохондрий по их ультраструктуре.— В кн.: Материалы IX Всесоюз. конф. по электрон. микроскопии, 29 окт.— 2 нояб. 1973 г. Тбилиси. М.: Наука, 1973, с. 385—386.
5. Берстон М. Гистохимия ферментов.— М.: Мир, 1965.— 438 с.
6. Богомолец О. О. Специфічна цитотоксична стимуляція і блокада клітинних функцій.— Мед. журн. АН УРСР, 1935, 4, вып. 3—4, с. 447—456.
7. Богомолец О. О. Феномен аутокатализа і трансфузія крові.— Мед. журн. АН УРСР, 1935, 5, вып. 1, с. 1—6.
8. Браун А. Д., Булычев А. Г., Ганелина Л. Ш. Изменения метаболизма клетки при повреждении.— Цитология, 9, № 10, с. 1225—1247.
9. Граменицкий Е. М. Прижизненная окраска клеток и тканей.— Л.: Медгиз, 1963.— 183 с.
10. Дин Р. Процессы распада в клетке.— М.: Мир, 1981.— 120 с.
11. Кирьянова Е. А., Зеленин А. В. Некоторые закономерности накопления инородных для клетки веществ в лизосомах.— Докл. АН СССР, 1970, 190, № 2, с. 451—455.
12. Клейменова Н. Н. Электронно-микроскопическое изучение сукцинатдегидрогеназной активности изолированных митохондрий сердца в норме и при сердечной недостаточности.— В кн.: Материалы IX Всесоюз. конф. по электрон. микроскопии, 29 окт.— 2 нояб. 1973 г. Тбилиси. М.: Наука, 1973, с. 387.
12. Козельцев В. Л., Хорошков Ю. А. Морфологические и функциональные особенности популяций митохондрий печени крыс.— В кн.: Материалы IX Всесоюз. конф. по электрон. микроскопии, 29 окт.— 2 нояб. 1973 г. Тбилиси. М.: Наука, 1973, с. 391.
14. Кярнер Ю. К. Связь лизосом с эндоплазматической сетью и аппаратом Гольджи в фибробластах курицы в трипсинизированной тканевой культуре.— Цитология, 1971, 13, № 10, с. 1204—1210.
15. Райхлин Н. Т. Лизосомы в норме и патологии.— Арх. патологии, 1971, № 4, с. 73—82.
16. Dingle J. T. Vacuoles, vesicles and lysosomes.— Brit. Med. Bull., 1968, 24, N 2, p. 141—145.
17. Gabathuler M. P., Ryser H. J. P. The digestive function of lysosomes as studied by the turnover of ingest foreign macromolecules.— Proc. Roy. Soc. Med., 1969, B-173, N 1030, p. 95—98.
18. Kaplow L. S. A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow.— Blood, 1955, N 10, p. 1023—1029.
19. Kurosumi K. Cytochemistry and functional morphology of the Golgi apparatus.— Acta histochem. et cytochem., 1972, 5, N 4, p. 242—245.
20. Lysosomes in biology and pathology / Ed. J. T. Dingle and H. B. Fell.— Amsterdam; London: Holland Publish. comp., 1969, vol. 2, part 2.— 668 p.
21. Menard R. H., Purvis J. L. Studies of cytochrome P-450 in testis microsomes.— Arch. Biochem. and Biophys., 1973, 154, N 1, p. 8—18.
22. Psychogios S., Tallan H. H., Greengard P. Aldosterone synthesis by adrenal mitochondria.— J. Biol. Chem., 1966, 241, N 12, p. 2949—2955.
23. Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy.— J. Cell. Biol., 1963, 17, N 2, p. 208—212.
24. Schneider W. C., Hogeboom G. H. Intracellular distribution of enzymes. Further studies on the distribution of cytochrome.— J. Biol. Chem., 1950, 183, N 1, p. 123—127.

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

Поступила в редакцию
1. III 1982 г.

УДК 616.122.32—07:616.5—002.525.2:617.7

Г. Н. Дранник
Т. С. Монга, Н.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СУПРИ ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ

В последние четверть века аллотрансплантата с трансплантационного иммунитета процессах отторжения (Т-система) и гуморально

Большая часть исследований посвящена и низма действия Т-лимфоцитов в реакции отторжения двух других прессоров — практически ко в плане более полного изучения аллогенного взаимодействия активности хелперов и супрессоров. Целью настоящего исследования является изучение активности Т-лимфоцитов в реакции отторжения почечного аллотрансплантата у собак.

Целью настоящего исследования является изучение активности Т-лимфоцитов в реакции отторжения почечного аллотрансплантата у собак.

Эксперимент поставлен с целью изучения активности Т-лимфоцитов в реакции отторжения почечного аллотрансплантата у собак.

Оперированные животные были разделены на две группы: I группа — 10 собак, аллотрансплантация почечного аллотрансплантата в дозе 20 мг/кг в течение первой недели; II группа — 10 собак, аллотрансплантация почечного аллотрансплантата в дозе 20 мг/кг в течение первой недели. Вспомогательная группа — 10 собак, аллотрансплантация почечного аллотрансплантата в дозе 20 мг/кг в течение первой недели. Вспомогательная группа — 10 собак, аллотрансплантация почечного аллотрансплантата в дозе 20 мг/кг в течение первой недели.

Функциональную активность Т-лимфоцитов определяли до операции у собак II и III групп до операции. Определение функции Т-лимфоцитов в периферической крови собак в градиенте плотности фико-вергали криоконсервации. Вывод: конечная концентрация в 1 мл в стеклянные ампулы, скоростью снижения температуры

УДК 616.122.32—07:616.5—002.525.2:617.758.6+616.152.32—072.7

Г. Н. Дранник, Г. И. Когут, Г. Т. Глухенькая,
Т. С. Монтаг, Н. А. Калинина, Е. И. Литвищенко

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ СУПРЕССОРОВ И ХЕЛПЕРОВ ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В последние четверть века иммунологическая природа отторжения аллотрансплантата стала общепризнанной. Изучение механизмов трансплантационного иммунитета привело к установлению участия в процессах отторжения двух основных иммунных факторов: клеточного (Т-система) и гуморального (В-система).

Большая часть исследований, проводившихся до настоящего времени, была посвящена изучению функциональной активности и механизма действия Т-лимфоцитов киллеров в процессе развития трансплантационной реакции отторжения. Работ же об участии в реакции отторжения двух других субпопуляций — Т-лимфоцитов хелперов и супрессоров — практически нет. Изучение их функции интересно не только в плане более полной характеристики участия Т-системы в отторжении аллогенного органа. Особый интерес представляет также исследование активности хелперов и супрессоров в аспекте дифференцированного воздействия на них иммуносупрессивных препаратов, нашедших широкое применение в клинике при лечении реакции отторжения почечного аллотрансплантата.

Целью настоящего исследования явилось изучение функциональной активности Т-лимфоцитов хелперов и супрессоров при аллотрансплантации почки собакам без иммунодепрессии, а также в условиях применения АЛГ и преднизолона с имураном.

Методика исследований

Эксперимент поставлен на 28 беспородных собаках, аллотрансплантацию почки которым осуществляли на сосуды шеи.

Оперированные животные составили следующие группы: I группа — 8 животных, пересадка почки которым осуществлялась без применения иммунодепрессии (контроль); II группа — 10 собак, аллотрансплантацию почки которым проводили в условиях применения козьего или кроличьего АЛГ. Препарат до операции вводили трижды, ежедневно внутримышечно в дозе 20—30 мг/кг веса. После операции АЛГ вводили в той же дозе в течение первой недели — ежедневно, в течение второй — через день и в течение третьей — через 2 дня. Впоследствии, вплоть до отторжения трансплантата, АЛГ вводили через три дня на четвертый. III — группа — животные, пересадку почки которым выполняли на фоне сочетанного применения *reg os* имурана и преднизолона. Преднизолон («Рихтер») первоначально вводили за 16—28 ч до пересадки в дозе 5 мг/кг, а затем ежедневно в той же дозе в течение первой недели после операции. Во все дни последующей недели препарат назначали животным в меньшей дозе — 3 мг/кг, а далее, вплоть до отторжения трансплантата — через день в дозе 1 мг/кг. Имуран («Wellcome») начинали вводить сразу же после операции и в первую неделю давали ежедневно в дозе 4 мг/кг, во вторую — ежедневно 2 мг/кг, а затем — через день 1 мг/кг.

Функциональную активность Т-лимфоцитов супрессоров и хелперов у собак I группы определяли до пересадки, а также через 3—5—7—9—14 сут после операции. У собак II и III групп — до операции, а затем через 3 сут 1—2—3 нед после нее.

Определение функциональной активности Т-лимфоцитов супрессоров. Лимфоциты периферической крови собак-реципиентов до пересадки им аллогенной почки выделяли в градиенте плотности фиколл-урографина, дважды отмывали средой RPMI-1640 и подвергали криоконсервации. В качестве криопротекторного вещества применяли 8 % раствор диметилсульфоксида. В защитный раствор добавляли также аутологичную сыворотку. Конечная концентрация клеток — 2×10^6 в 1 мл. Суспензию лимфоцитов разливали по 1 мл в стеклянные ампулы, запаивали и подвергали программному замораживанию со скоростью снижения температуры 1°C в мин до -10°C на первом этапе и 10°C в мин

Таким образом, исследования показали, что в ближайшем пост-трансплантационном периоде происходит падение супрессорной с одновременным нарастанием хелперной активности Т-клеток. Затем, начиная с конца первой недели после пересадки, иммунная система реципиента начинает подвергаться возрастающему влиянию Т-лимфоцитов супрессоров. В принципе это не противоречит известным фактам о

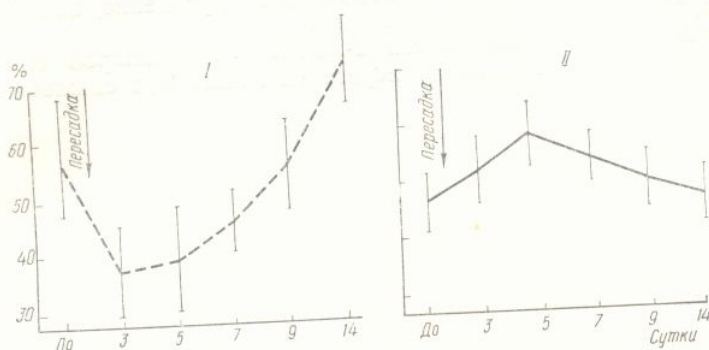


Рис. 1. Функциональная активность Т-лимфоцитов супрессоров (I) и хелперов (II) у интактных собак до и после пересадки аллогенной почки.

По вертикали: I — супрессорная активность (%), II — хелперная активность (%); по горизонтали — время (в сутках) после пересадки.

патогенезе реакции отторжения аллогенной почки без применения иммунодепрессивной терапии. Многочисленными морфологическими исследованиями показано, что именно в эти сроки лимфоцитарная инфильтрация почечного трансплантата сменяется лейкоцитарной с развитием явлений выраженного воспаления. Можно думать, что трансплантационная реакция отторжения состоит из двух этапов: специфического (начального, пускового) и неспецифического (воспалительного, завершающего). Начальный (специфический) этап обусловлен развитием специфической иммунной реакции, реализация которой осуществляется клеточным и гуморальным фактором иммунитета. По всей вероятности, момент усиления функции Т-супрессоров свидетельствует о том, что специфические иммунные факторы завершили свою «работу», которая проявляется в виде альтерации ткани пересаженного органа. С этого момента включается неспецифический, воспалительный этап, завершающий начатое «дело».

Подобные результаты получены [14] при индуцировании у морских свинок интерстициального нефрита путем иммунизации животных почечным тубулярным антигеном в смеси с полным стимулятором Фрейнда. Авторы обнаружили, что пик специфической противопочечной активности лимфоцитов регистрируется на 7—11 день после иммунизации. В этот же период отмечено усиление функциональной активности неспецифических Т-лимфоцитов супрессоров, что сопровождалось снижением противопочечной реактивности лимфоидных клеток в период с 12 по 17 день.

Обнаруженная нами повышенная активность Т-хелперов, сохраняющаяся до конца второй недели, по-видимому, также имеет биологический смысл. Можно думать, что этим клеткам присуща функция иммунологической памяти, и в случае повторного попадания гомологичного антигена в организм животного за счет их повышенной активности иммунный ответ будет реализован в более краткие сроки. Это предположение подтверждается работой [7], в которой показано, что развитие вторичного иммунного ответа происходит при участии Т-лимфоцитов хелперов.

Результаты исследования функциональной активности Т-лимфоцитов супрессоров и хелперов при использовании АЛГ представлены на рис. 2, из которого видно, что активность Т-супрессоров была существенно подавлена уже накануне пересадки, видимо, за счет предоперационного введения АЛГ. В последующем, вплоть до конца второй недели, функция Т-лимфоцитов супрессоров оставалась резко сниженной, и лишь на третьей неделе отмечалось ее усиление, которое не достигало, однако, исходных показателей.

Функциональная активность Т-лимфоцитов хелперов также оказалась пониженной к моменту пересадки почки. Это снижение хоть и

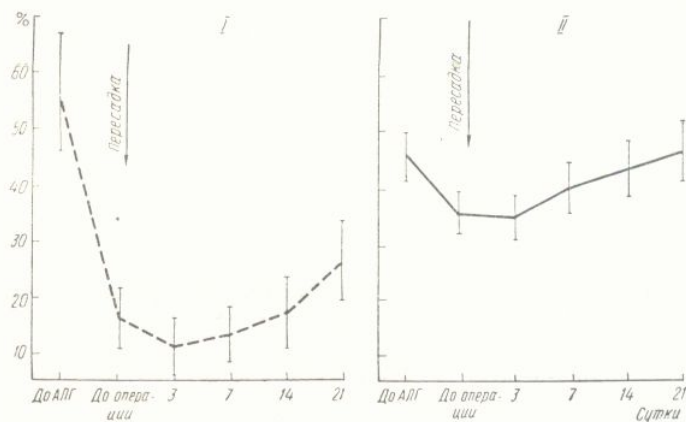


Рис. 2. Функциональная активность Т-лимфоцитов супрессоров (I) и хелперов (II) у собак до и после пересадки аллогенной почки на фоне АЛГ.

По горизонтали — сроки введения АЛГ до и после пересадки. Остальные обозначения см. рис. 1.

носило статистически достоверный характер, однако не было таким резким, как у клеток супрессоров. Более того, к концу первой недели проявлялась четкая тенденция к повышению активности Т-хелперов, которая достигала исходных величин между второй и третьей неделями после операции. Следует сказать, что сведения относительно возможного угнетающего влияния АЛС на функцию Т-супрессоров встречались и ранее [3—6, 12]. Между тем, в последние годы появились данные, согласно которым АЛГ может вызывать усиление функции Т-супрессоров [15]. Отметим также работы [17], в которой показан угнетающий эффект АТС на Т-клетки мышей, обладающие хелперной активностью.

Результаты исследования функциональной активности Т-лимфоцитов супрессоров и хелперов в динамике посттрансплантационного периода в условиях применения имурана и преднизолона представлены на рис. 3, из которого видно, что под влиянием имурана с преднизолоном, супрессорная активность Т-лимфоцитов, так же как и под влиянием АЛГ, резко снижалась уже в первые трое суток после пересадки. В последующие сроки функция Т-супрессоров продолжала оставаться на низких уровнях и лишь к концу третьей недели отмечалось ее незначительное повышение. Таким образом видно, что динамика функциональной активности Т-супрессоров под влиянием имурана и преднизолона весьма напоминала обнаруженную у собак при введении АЛГ.

Иные результаты были получены при изучении функции Т-лимфоцитов хелперов. Здесь, в противоположность данным, полученным при использовании АЛГ, оказалось, что активность Т-лимфоцитов хелперов с первых же суток после пересадок возрастала. Пик активности Т-хелперов регистрировался на пятые посттрансплантационные сутки

(разница с исходными данными отмечалось некоторое длительное плато на достов

В последнее время появ и нам, удалось показать р Т-супрессоров и хелперов. сопровождается выражением Т-лимфоцитов супрессоров

В то же время при из периферической крови здо

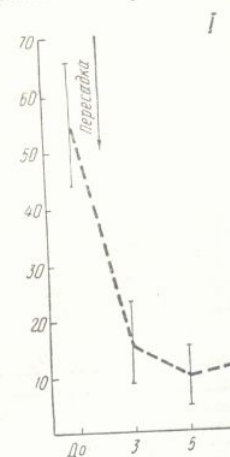


Рис. 3. Функциональная активность Т-лимфоцитов супрессоров (I) и хелперов (II) у собак под влиянием имурана и преднизолона.

По горизонтали — сроки введения АЛГ до и после пересадки. Остальные обозначения см. рис. 1.

ное введение метилпреднизолона функциональной активности Т-лимфоцитов после однократного внутривенного введения 4 ч лимфоциты здоровых собак в культуре аутологичных клеток оказывали усиливающее действие.

В отношении имурана и преднизолона его неодинаковое влияние на функцию Т-хелперов. Так, сделан вывод о том, что преднизолон избирательно элиминирует Т-супрессоры, в то время как метилпреднизолон действует на Т-хелперы [8, 9].

Таким образом исследование показало, что преднизолон угнетает функцию Т-хелперов, а метилпреднизолон — функцию Т-супрессоров.

Степень угнетения функциональной активности Т-хелперов и Т-супрессоров является весьма важной характеристикой иммунодепрессии.

Мы уже подчеркивали, что индивидуальность реакции на трансплантат в зависимости от дозы и времени введения АЛГ. В течение 24 дней (долгосрочное наблюдение) активность Т-лимфоцитов хелперов была гораздо выше, чем у животных, которым трансплантат у которых от

(разница с исходными данными статистически достоверна). В последующем отмечалось некоторое снижение функции Т-хелперов и переход в длительное плато на достоверно более высоких цифрах, чем в начале.

В последнее время появились работы, авторам которых, так же как и нам, удалось показать различное влияние стероидов на активность Т-супрессоров и хелперов. Так, обнаружено, что введение стероидов сопровождается выраженным снижением активности циркулирующих Т-лимфоцитов супрессоров [1, 10, 16].

В то же время при изучении хелперной активности Т-лимфоцитов периферической крови здоровых добровольцев, показано, что экзоген-

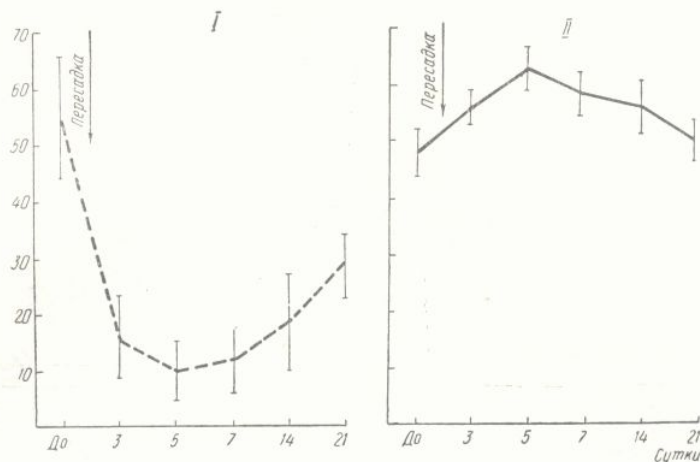


Рис. 3. Функциональная активность Т-лимфоцитов супрессоров (I) и хелперов (II) у собак до и после пересадки почки в условиях применения имурана с преднизолоном.

По горизонтали — сроки введения имурана и преднизолона до и после пересадки.

ное введение метилпреднизолона, по крайней мере, не снижает функциональной активности Т-хелперов. Более того, обнаружено [11], что после однократного внутривенного введения гидрокортизона уже через 4 ч лимфоциты здоровых людей теряли супрессорную активность и в культуре аутологичных лимфоцитов, стимулируемых митогеном лаконоса, оказывали усиливающее действие.

В отношении имурана также имеются данные, свидетельствующие о его неодинаковом влиянии на Т-лимфоциты супрессоры и хелперы. Так, сделан вывод о том, что азатиоприн в концентрации 1 и 10 мкг/мл избирательно элиминирует регуляторную субпопуляцию Т-клеток супрессоров, в то время как Т-хелперы остаются резистентными к его действию [8, 9].

Таким образом исследования показали, что АЛГ, имуран и преднизолон угнетают функцию Т-супрессоров. В то же время на функцию Т-хелперов использованные иммунодепрессанты действуют по-разному.

Степень угнетения функциональной активности Т-супрессоров представляется весьма важным фактором, способным повлиять на длительность функционирования аллогенной почки.

Мы уже подчеркивали, что исходная (предоперационная) активность Т-супрессоров у обследованных собак носила четко выраженный индивидуальный характер. Анализ выживаемости почечного аллотрансплантата в зависимости от исходного состояния активности Т-супрессоров показал, что у собак II и III групп (рис. 4), выживших более 24 дней («долгожители»), исходная супрессорная активность Т-лимфоцитов была гораздо выше, чем у тех животных, почечный аллотрансплантат у которых отторгся ранее 24-дневного срока.

Более того, из рисунков видно, что после применения иммунодепрессии активность Т-супрессоров у собак — «долгожителей» хотя и снижалась, однако на всем протяжении эксперимента была выше, чем у собак с небольшим сроком функционирования аллогенной почки.

Можно предположить, что высокая исходная активность Т-супрессоров, а также некоторая сохранность их функции после введения препаратов способствуют «ослаблению» выраженности иммунного ответа

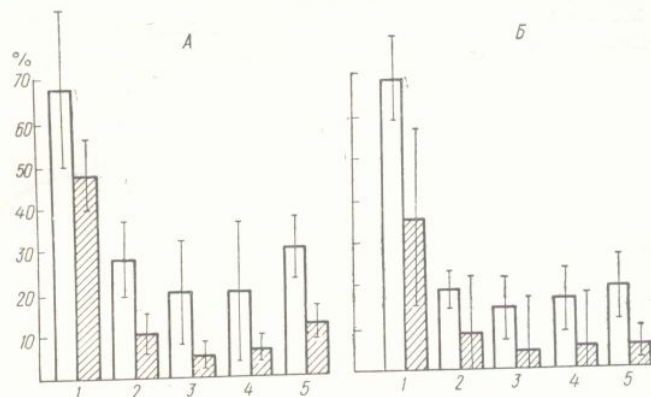


Рис. 4. Функциональная активность Т-лимфоцитов супрессоров у собак III (А) и II (Б) групп в зависимости от сроков функционирования аллогенной почки.

По вертикали: процент супрессии. Заштрихованные столбики реципиенты, у которых трансплантат отторгся в течение 24 дней после пересадки; белые столбики — реципиенты, у которых трансплантат функционировал более 24 дней.

По горизонтали: 1 — до пересадки; 2, 3, 4, 5 — соответственно через 3 сут, 1 нед, 2 нед, 3 нед после пересадки.

при развитии конфликта гистонесовместимости, что в конечном итоге проявляется в виде пролонгации выживаемости аллотрансплантата.

Обнаружено также, что длительное функционирование почечного аллотрансплантата у больных ассоциировалось с усиленной функцией Т-супрессоров [13, 18].

Поскольку хроническое отторжение реализуется в основном гуморальными антителами, можно предположить, что выраженное угнетение регулирующей функции Т-супрессоров создает предпосылки для «бесконтрольной» продукции антител, накопления их в трансплантате и развития хронического отторжения.

Проведенные опыты позволяют сделать вывод о необходимости разработки новых подходов к терапии реакции отторжения почечного аллотрансплантата, основанных на селективной супрессии или стимуляции отдельных субпопуляций лимфоидных клеток.

G. N. Drannik, G. I. Kogut, G. T. Glukhenkaya, T. S. Montag,
N. A. Kalinina, E. I. Litvishchenko

FUNCTIONAL ACTIVITY OF SUPPRESSOR AND HELPER T-LYMPHOCYTES IN THE EXPERIMENTAL RENAL ALLOTRANSPLANTATION

Suppressor and helper T-lymphocytes were studied for their functional activity during renal transplantation in dogs without immunosuppression and with application of antilymphocyte globulin (ALG) and prednisolone with imuran. During the first posttransplantative week in intact dogs the activity of suppressor T-cells decreased and that of helper cells increased. By the end of the first week the activity of T-suppressors increased and that of T-helpers gradually decreased. When ALG was used, the activity of both cellular populations was significantly suppressed before transplantation (the preparation was introduced before operation). After the operation the activity of T-suppressors remained sharply decreased, and that of T-helpers increased to the initial level. Imuran with prednisolone influenced T-suppressors the same way as ALG did. The function of T-helpers, on the contrary, increased under the effect of these preparations.

1. Гюллинг Э. В., Мельников О. Отменяемое презинилоном. — Б с. 316—318.
2. Лаврик С. С., Когут Г. И., Гал смертного костного мозга по а с. 79—82.
3. Baker P. I., Barth R. F., Stashak to type III pneumococcal polys J. Immunol., 1970, 104, N 4, p. 1
4. Baker P. I., Stashak P. W., An response to type III pneumoco suppressor cells. — J. Immunol.
5. Barth R. F., Singla O., Liu C. mocosuccus after treatment with N 9, p. 1307—1312.
6. Barthold D. R., Stashak P. W of antithymocyte (ATS) seru type III pneumococcal polysac
7. van Bochner H. V. Separatic lymphocyte reaction. — Immun
8. Dimitriu A., Fauci A. S. Acti of azathioprine on B-lymphocy tion. — J. Immunol., 1978, 121
9. Dimitriu A., Fauci A. S. Diffi to azathioprine. — Transplant. P
10. Haynes B. F., Fauci A. S. N pulations. IV. Effect of in induced suppressor cells in
11. Haynes B. F., Katz P., Fauc subpopulations. V. Effect o function of naturally occu Cell. Immunol., 1979, 44, N
12. Hopkins W. I. Anti-thymoc same antigenic determinant
13. Liburd E. M., Pazderka V. cells and reduced CML, ir Proc., 1978, 10, N 3, p. 557
14. Nelson E. G., Phillips M. phocyte systems in neph immune response. — J. Imm
15. Rieger M., Hilgert, Kristo in antilymphocyte serum i 1979, 25, N 4, p. 220—230
16. Saxon A., Stevens R. H., bit human suppressor T-ly in vitro immunoglobulin
17. Tamura S. J., Ogashira I and helper-cell activity in 28, N 5-6, p. 279—283.
18. Thomas I. M., Thomas I ness after successful rei Proc., 1979, 11, N 2, p. 1

Киевский институт урологии
Киевский институт гематол

Список литературы

1. Гюллинг Э. В., Мельников О. Ф. Супрессорное действие аутологических тимоцитов, отменяемое презинилоном.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1978, № 3, с. 316—318.
2. Лаврик С. С., Козут Г. И., Глухенькая Г. Т., Климентьева Р. А. Типирование по-смертного костного мозга по антигенам системы HLA.— Врачеб. дело, 1979, № 10, с. 79—82.
3. Baker P. I., Barth R. F., Stashak P. W. et al. Enhancement of the antibody response to type III pneumococcal polysaccharide in mice treated with antilymphocyte serum.— J. Immunol., 1970, 104, N 4, p. 1313—1320.
4. Baker P. I., Stashak P. W., Amsbaugh D. F., Prescott B. Regulation of the antibody response to type III pneumococcal polysaccharide. II Mode of action of thymicderivate suppressor cells.— J. Immunol., 1974, 112, N 2, p. 404—412.
5. Barth R. F., Singla O., Liu C. Suppressor T-cells and host resistance to type III pneumococcus after treatment with antilymphocyte serum.— Infect. Immunity, 1975, 126, N 9, p. 1307—1312.
6. Barthold D. R., Stashak P. W., Amslaugh D. F. et al. Strain difference in the ability of antithymocyte (ATS) serum to enhance the antibody response of inbred mice to type III pneumococcal polysaccharide.— Cell. Immunol., 1973, 6, № 2, p. 310—325.
7. van Bochner H. V. Separation of T and B lymphocytes and their role in the mixed lymphocyte reaction.— Immunology, 1974, 112, N 1, p. 70—76.
8. Dimitriu A., Fauci A. S. Activation of human B-lymphocytes. XI Differential effects of azathioprine on B-lymphocytes and lymphocyte subpopulation regulating B-cell function.— J. Immunol., 1978, 121, N 6, p. 2335—2339.
9. Dimitriu A., Fauci A. S. Differential sensitivity of human lymphocyte subpopulations to azathioprine.— Transplant. Proc., 1979, 11, N 1, p. 878—881.
10. Haynes B. F., Fauci A. S. Mechanisms of corticosteroid action on lymphocyte subpopulations. IV. Effect of *in vitro* hydrocortison on naturally occurring and mitogen-induced suppressor cells in man.— Cell. Immunol., 1979, 44, N 1, p. 157—168.
11. Haynes B. F., Katz P., Fauci A. S. Mechanism of corticosteroid action on lymphocyte subpopulations. V. Effect of *in vivo* hydrocortison on the circulatory kinetics and function of naturally occurring and mitogen-induced suppressor cells in man.— Cell. Immunol., 1979, 44, N 1, p. 169—178.
12. Hopkins W. I. Anti-thymocyte serum may enhance or suppress the response to the same antigenic determinant.— Immunology, 1975, 29, N 4, p. 867—874.
13. Liburd E. M., Pazderka V., Kovithavongs T., Dossetor I. B. Evidence for suppressor cells and reduced CML, induction by the donor in transplant patients.— Transplant. Proc., 1978, 10, N 3, p. 557—561.
14. Nelson E. G., Phillips M. S. Cell-mediated immunity in interstitial nephritis. I. T-lymphocyte systems in nephritic guinea pigs: the natural history and diversity of the immune response.— J. Immunol., 1979, 123, N 5, p. 2373—2380.
15. Rieger M., Hilgert., Kristofova H., Vlachov K. Induction of suppressor cell mechanism in antilymphocyte serum induced skin allograft tolerance in mice.— Folia. biol. CSSR, 1979, 25, N 4, p. 220—230.
16. Saxon A., Stevens R. H., Raner C. J. et al. Glucocorticoids administered *in vivo* inhibit human suppressor T-lymphocyte function and diminish B-lymphocyte responsiveness *in vitro* immunoglobulin synthesis.— J. Clin. invest., 1978, 1, N 4, p. 922—930.
17. Tamura S. J., Ogashira I. Effect of antithymocyte serum on developed hypersensitivity and helper-cell activity induced in the same mice.— Jap. J. Med. Sci. and Biol., 1975, 28, N 5-6, p. 279—283.
18. Thomas I. M., Thomas F. T., Hoffman S. et al. Donor-specific CML hyporesponsiveness after successful renal transplantation: studies on the mechanism.— Transplant. Proc., 1979, 11, N 2, p. 1258—1259.

Киевский институт урологии;
Киевский институт гематологии и переливания крови

Поступила в редакцию
19.IX 1981 г.

УДК 616—001.19:612.017.1

В. П. Чернышов

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ
ПРИ ЛОКАЛЬНОМ ПРОЛОНГИРОВАННОМ КРИОВОЗДЕЙСТВИИ

После краткого криовоздействия на предстательную железу собак не обнаружено какой-либо инфильтрации ткани простаты лимфоидными и плазматическими клетками [4, 5]. Однако такие изменения констатированы в опытах на обезьянах [3].

Изученная нами антигенность предстательной железы собаки в аутологичном и аллогенном организме и воспроизведение на этом виде животных аутоиммунного поражения предстательной железы [2] позволило предположить возможность иммунного ответа на криодеструкцию железы при определенных условиях. Учитывая, что в упомянутых морфологических исследованиях было проведено частичное замораживание предстательной железы в течение 4 мин независимо от размера железы, мы устанавливали длительность криовоздействия в зависимости от размера железы. Замораживание осуществляли из одной точки приложения криозонда до затвердения всей железы. В отличие от описанных выше работ, нами при криовоздействии введены два дополнительных фактора: 1) удлиненный период криовоздействия и 2) криовоздействие через раневую поверхность, когда наконецник — источник холода — находился в глубине паренхимы, что обеспечивало тесный контакт непосредственно с тканью предстательной железы.

Методика исследований

Исследование проведено на 59 молодых половозрелых собаках-самцах массой 15—20 кг. У 43 из них осуществляли криовоздействие на предстательную железу. Контролем служили 16 собак, из которых у восьми производилась лишь биопсия предстательной железы, у четырех собак — криовоздействие на почку и у четырех — на семенник. Криодеструкцию предстательной железы осуществляли с помощью криозонда, изготовленного Институтом физики АН УССР.

Под внутривенным гексеноловым наркозом вскрывается брюшина полость. В надлобковой области параллельно средней линии живота, отступая от нее на 3—5 см, делается разрез кожи. Тупым путем обнажается белая линия живота, и по ней производится разрез брюшной стенки. Выделяется предстательная железа, поверхность ее освобождается от жировой клетчатки. Из ventральной части левой доли железы иссекается прямоугольный кусочек ткани размером 5×8×4 мм, малая часть которого используется для морфологического контроля, а большая—для приготовления антигена аутологичной предстательной железы. В образовавшийся дефект ткани вводят наконец криозонда. Замораживание осуществляется до затвердения всей железы, что контролируется пальпаторно. Время замораживания зависит от величины предстательной железы и в среднем составляет 10 мин. Оттаивание происходит естественным путем, его продолжительность 10—15 мин. Для предотвращения замораживания окружающих органов и тканей предстательную железу приподнимают с помощью лигатур и металлических крючков, подвешенных под уретру выше и ниже простаты.

В опытах по криогенному воздействию на предстательную железу две собаки забиты через 10 мин после оттаивания предстательной железы, две — через 24 ч, две — через 7 сут, две — через 21 сут, и на них проведено лишь морфологическое исследование. Остальные 35 собак с криовоздействием на предстательную железу подразделены на 4 группы: 11 собак с одним однократным криовоздействием (I группа), 11 собак с одним трехкратным криовоздействием (II группа), 5 собак с одним трехкратным криовоздействием с введением животным антилимфоцитарного глобулина, начиная за одну неделю до опыта, в дозе 13 мг/кг через день в течение одного месяца (III группа) и 8 собак с тремя трехкратными криовоздействиями, интервалы между которыми составляли 1—2 мес (IV группа).

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) изучали с помощью ингибции миграции лейкоцитов в капилляре (ИМЛ). Аутоантитела выявляли с помощью реакции пассивной гемагглютинации (РПГА). Преципитирующие антитела — с помощью

реакции двойной диффузии в а-
19S-антигены проводили на ко-
леще антигена использовали во-
ной железы. Конечная концен-
мере, а РПГА — в момент адсор-
на составляла 100 мкг/мл, в ре-
Для приготовления антигена ку-
могенизировали, водно-солевые в-
60 мин, 4 °C расфасовывали по
вытяжках определяли по мето-
дическим антигенам в водно-соле-
помощью кроличьих сывороток,
тельной железы собак и исто-
печени, легкого, сердца, селе-
лимфоцитов использовали реак-

Результаты

При исследовании по титру 1 : 8. Через 7 дней выявляться. У ряда животных аутоантитела. В I группе антитела обнаружены у 10 животных. В I группе титр аутоантител несколько недель после начала этанола и на колонке с сорбентом. По-видимому, они присутствуют в течение уже 10 дней, которые выделялись в моче. Таким образом, при введении АЛГ III группы, у трех собак антитела к 2-меркапту. При фракционировании g-200 активность аутоантител. Вторичный ответ антител. Когда трехкратное введение один месяц (IV группа) с каждым сеансом антител. Они были устойчивы к 7S-антителам. Выводимых аутоантител. В большинстве случаев антител предстательной железы. Обладают органоидной структурой.

После замораживания через 4 нед обнаружены чувствительных к 2-МЭ, 6—7 нед — нечувствительных почки у четырех собак. Не обнаружены также в оперативного вмешательства желез.

Как следует из преобразования, выраженная на предстательную жел

реакции двойной диффузии в агаровом геле и иммуноэлектрофореза. Выделение 7S и 19S-антител проводили на колонках с сефадексом ДЕАЕ А-50, АЕ А-50, g-200. В качестве антигена использовали водно-солевой экстракт ткани аутологичной предстательной железы. Конечная концентрация антигена по белку при постановке ИМЛ в камере, а РПГА — в момент адсорбции антигена на таннизированных эритроцитах барана составляла 100 мкг/мл, в реакции преципитации в агаровом геле — 20–25 мг/мл. Для приготовления антигена кусочки ткани растирали в охлажденном стеклянном гомогенизаторе, водно-солевые вытяжки после центрифугирования при режиме 12000g, 60 мин, 4°C расфасовывали по порциям и хранили при —20°C. Содержание белка в вытяжках определяли по методу Лоури. Количественное содержание органоспецифических антигенов в водно-солевых экстрактах ткани предстательной железы изучали с помощью кроличьих сывороток, полученных после иммунизации вытяжками предстательной железы собак и истощенных вытяжками из ткани других органов (почки, печени, легкого, сердца, селезенки). Для характеристики функционального состояния лимфоцитов использовали реакцию бласттрансформации (РБТ) на ФГА, Кон А и PWM.

Результаты исследований и их обсуждение

При исследовании подопытных животных до криовоздействия аутоантитела в сыворотке крови обнаружены лишь у двух животных в титре 1:8. Через 7 дней после криовоздействия эти антитела перестали выявляться. У ряда животных через 2–6 нед появились циркулирующие аутоантитела. В I группе с однократным криовоздействием аутоантитела обнаружены у восьми животных, во II группе с одним трехкратным криовоздействием — у семи. При трехкратном замораживании титр аутоантител несколько выше. Аутоантитела, выявляемые до четырех недель после начала опыта, были чувствительны к 2-меркаптоэтанолу и на колонке с сефадексом g-200 выделялись с первым пиком. По-видимому, они представляют собой 19S-антитела. В последующие сроки определялись уже устойчивые к 2-меркаптоэтанолу аутоантитела, которые выделялись на колонке с сефадексом ДЕАЕ А-50 с первым пиком. Таким образом первичный иммунный ответ сменялся вторичным. При введении АЛГ (антилимфоцитарного глобулина) животным III группы, у трех собак обнаружено образование аутоантител, чувствительных к 2-меркаптоэтанолу, в титре 1:8–1:32 в срок 4–5 нед. При фракционировании наиболее активных сывороток на сефадексе g-200 активность аутоантител обнаружена во фракции 19S-глобулинов. Вторичный ответ антителообразования у данных животных не выявлен. Когда трехкратное замораживание проводилось трижды с интервалом один месяц (IV группа), отмечено нарастание титра аутоантител с каждым сеансом замораживания предстательной железы. Особенно высокий титр аутоантител обнаружен после третьего замораживания. Они были устойчивы к 2-меркаптоэтанолу и, по-видимому, относились к 7S-антителам. С целью изучения органной направленности выявляемых аутоантител одновременно ставили реакцию пассивной гемагглютинации с изологичными антигенами почки и семенника. В большинстве случаев аутоантитела были специфичны в отношении антигена предстательной железы, титр перекрестно реагирующих антител значительно ниже. Следовательно, образовавшиеся аутоантитела обладают органной специфичностью в отношении антигенов предстательной железы.

После замораживания семенника (V группа) у двух (50 %) животных через 4 нед обнаружено появление антисеменниковых аутоантител, чувствительных к 2-МЭ, однако в низких титрах (1:8–1:16), а через 6–7 нед — нечувствительных к 2-МЭ. При криовоздействии на ткань почки у четырех собак мы не обнаружили образования аутоантител. Не обнаружены также аутоантитела и у контрольных животных после оперативного вмешательства — биопсии левой доли предстательной железы.

Как следует из приведенного материала, интенсивность антителообразования, выраженная в титре аутоантител, после криовоздействия на предстательную железу индивидуальна. Мы решили выяснить, за-

висит ли антителообразование от содержания органоспецифических антигенов предстательной железы. Содержание органоспецифических антигенов в вытяжках предстательной железы определяли по [1] с использованием реакции преципитации в агаровом геле. Определяли минимальное количество белка в водно-солевой вытяжке предстательной железы собаки, при котором еще формировалась полоса преципитации. Это количество представляет собой частное от деления содержания белка в вытяжке на наибольшее разведение этой вытяжки, при котором еще происходит реакция антиген-антитело. Корреляционный анализ показал существование прямой зависимости между содержанием органоспецифических антигенов в предстательной железе и титром 19S-аутоантител, образующихся после трехкратной криодеструкции предстательной железы (II группа) при $r=0,705$, $p<0,05$. Корреляционное отношение $\rho_y=0,98$. Следовательно, связь между титром 19S-антител и содержанием органоспецифических антигенов близка к функциональной. Для 7S-антител не выявлено тесной зависимости от содержания органоспецифических антигенов ($r=0,25$).

Динамически, один раз в неделю, с помощью теста ИМЛ изучали состояние сенсибилизации лимфоцитов к аутоантигенам предстательной железы после криодеструкции. До криодеструкции у подопытных животных не обнаружено положительных показателей ИМЛ с аутологичным антигеном предстательной железы. В I группе положительные показатели ИМЛ обнаружены через 5–6 нед у пяти животных в интервале 0,59–0,79. При трехкратном криовоздействии положительный тест ИМЛ выявлен через 4–6 нед у восьми животных в интервале от 0,42 до 0,79. Сравнение данных групп животных по этим параметрам показало достоверно большее снижение показателей ИМЛ при трехкратном криовоздействии. Во II группе наблюдались более выраженные показатели, и даже среднее значение ИМЛ соответствует положительной реакции. У животных III группы, которым вводили АЛГ на всем протяжении опыта, положительных показателей теста ИМЛ не отмечено. Сравнение II и III групп показало, что при трехкратной криодеструкции введение АЛГ предотвращает появление положительной реакции ИМЛ. Из восьми животных IV группы после трех трехкратных криовоздействий с интервалом в 1 мес у шести животных развилась положительная реакция ИМЛ. Наиболее интенсивные показатели наблюдались после второго замораживания. После криодеструкции ткани семенника положительная реакция ИМЛ отмечена у трех животных, однако напряженность ее была довольно низкой. Тем не менее, по отношению к контролю отмечено достоверное снижение показателей ИМЛ. После криодеструкции почки положительных показателей ИМЛ не выявлено. При проведении корреляционного анализа взаимосвязи показателей ИМЛ у животных II группы с содержанием органоспецифических антигенов не обнаружено.

Показатели реакции бласттрансформации на фитомиогены ФГА, Кон А, PWM в динамике после одного трехкратного криовоздействия изменяются в целом однозначно. Через 1 нед после криодеструкции отмечается повышение показателей РБТ на все три митогена, которое продолжается до третьей недели, а затем к четвертой происходит понижение. Для различных митогенов имеются свои особенности в изменении показателей. Так, показатели РБТ на ФГА значительно повышаются уже через неделю, а Кон А происходит постепенное увеличение к третьей неделе. Для РБТ на PWM характерно повышение через 1 нед, а затем некоторое снижение. Тем не менее, на все три митогена отмечена волна повышения показателей с первой по третью неделю, вслед за тем происходит их снижение. На шестую неделю происходит новое небольшое повышение, однако в последующем, на седьмой-восьмой неделе оно не подкрепляется. Следовательно, после первой значительной волны повышения показателей РБТ происходит их

спад, и в последующем они. Лишь через 11 нед зафиксирование не проводилось, по известна.

В других группах живо изучали лишь в РБТ на ФГА опыта и через 3 нед после РБТ на ФГА отмечено при тельную железу, почку и с отсутствовало повышение п стательную железу на фон активность лимфоцитов под ными антителами, и при к. Причем в группе с применением, а после операции изменялись.

Сопоставляя ответ лим реакции, следует отметить, чувствительных к 2-МЭ, пр на фитомиогены; развитие дается при снижении реак активности лимфоцитов н специфической сенсибилизации. Ответ в виде образования мо, следует рассматривать изменения функциональных

Как видно из приведенного организма на криодеструкцию. Однако при сопоставлении вить некоторое представление лимфоцитов и образовании предстательной железы — разрушение ткани органов и и ассимиляцию тканевых разрушенной ткани. Развива гиперчувствительность зам ческий характер. Однако я является однозначно призна У некоторых животных у: реакция ИМЛ к антигена деструкции, в то время ка моя реакция была еще от физиологическая реакция. ется клеточная гиперсенс предстательной железы. ная гиперчувствительность дующем переходит в ГЗТ щих антигенных детерми денным в этом, так как нам была первая сенсиби ные, тесно не связанные д

После периода повышения снижается (на четвертую окончанию стимулирующе на лимфоциты. Кроме то способствует специфическ предстательной железы, р щее течение аутоиммунны особенности. Клеточная

спад, и в последующем они остаются на достаточно низком уровне. Лишь через 11 нед зафиксировано новое повышение. Дальнейшее наблюдение не проводилось, поэтому длительность такого повышения неизвестна.

В других группах животных изменения реактивности лимфоцитов изучали лишь в РБТ на ФГА. Определение проводилось два раза: до опыта и через 3 нед после криовоздействия. Повышение показателей РБТ на ФГА отмечено при всех видах криовоздействия: на предстательную железу, почку и семенник. Лишь в двух группах животных отсутствовало повышение показателей: при криовоздействии на предстательную железу на фоне применения АЛГ, когда функциональная активность лимфоцитов подавлялась специфическими антилимфоцитарными антителами, и при контрольной операции без криовоздействия. Причем в группе с применением АЛГ происходило понижение показателей, а после операции в контрольной группе показатели не изменялись.

Сопоставляя ответ лимфоцитов на фитомитогены и аутоиммунные реакции, следует отметить, что ответ в виде образования аутоантител, чувствительных к 2-МЭ, происходит при повышении показателей РБТ на фитомитогены; развитие замедленной гиперчувствительности наблюдается при снижении реактивности лимфоцитов, то есть угнетение реактивности лимфоцитов на фитомитогены происходит при развитии специфической сенсибилизации к антигенам предстательной железы. Ответ в виде образования чувствительных к 2-МЭ аутоантител, видимо, следует рассматривать как самостоятельный, не зависящий от изменения функциональных свойств Т-лимфоцитов.

Как видно из приведенных данных, иммунологическая реакция организма на криодеструкцию предстательной железы весьма сложна. Однако при сопоставлении всех изученных параметров можно составить некоторое представление о ее природе. Повышение реактивности лимфоцитов и образование циркулирующих 19S-антител к антигенам предстательной железы — это, повидимому, реакция организма на разрушение ткани органов и отражает как регенераторную реакцию, так и ассимиляцию тканевых белков (аутоантигенов), выходящих из разрушенной ткани. Развивающаяся у части животных вслед за этим гиперчувствительность замедленного типа, возможно, носит патологический характер. Однако нельзя думать, что клеточная сенсибилизация является однозначно признаком глубокого патологического процесса. У некоторых животных уже через 2—3 нед отмечена положительная реакция ИМЛ к антигенам пораженной ткани, взятой из очага криодеструкции, в то время как к антигенам нормальной ткани в это время реакция была еще отрицательной. Реакция на разрушение — это физиологическая реакция. Признаком патологического процесса является клеточная гиперсенсибилизация к антигенам непораженной ткани предстательной железы. Можно было бы предположить, что клеточная гиперчувствительность к антигенам пораженной ткани в последующем переходит в ГЗТ к антигенам неизменной ткани за счет общих антигенных детерминант. Однако до конца нельзя быть убежденным в этом, так как неизвестно, к каким индивидуальным антигенам была первая сенсибилизация. Возможно, это даже самостоятельные, тесно не связанные друг с другом явления.

После периода повышения ответ лимфоцитов на фитомитогены снижается (на четвертую неделю). Это может свидетельствовать об окончании стимулирующего действия продуктов разрушенной ткани на лимфоциты. Кроме того, снижению этих показателей, возможно, способствует специфическая сенсибилизация лимфоцитов к антигенам предстательной железы, развивающаяся к этому времени. Последующее течение аутоиммунных реакций, выявляемых *in vitro*, имеет свои особенности. Клеточная гиперчувствительность к антигенам неизмен-

ной предстательной железы сочетается с аутоантителами, устойчивыми к 2-МЭ (7S-аутоантитела). Этот период длится 4—6 нед.

В дальнейшем аутоантитела не определяются, но замедленная гиперчувствительность у ряда животных сохраняется.

Сопоставление реактивности лимфоцитов и динамики развития аутоиммунных реакций позволило выявить последовательные фазы (периоды) после криовоздействия с характерным комплексом иммунологических изменений. Для первой фазы, длительностью 4 нед, характерно повышение реактивности лимфоцитов в виде кривой с пиком на третьей неделе и понижением к четвертой неделе, образование циркулирующих аутоантител, чувствительных к 2-МЭ (19S-аутоантитела). Вторая фаза, длительностью 4—6 нед, начинается с пятой недели после криовоздействия, и для ее начала характерна обычная реактивность лимфоцитов в условиях РБТ на ФГА и КонА и некоторое повышение на РWM. После краткого незначительного повышения реактивности лимфоцитов на шестой неделе, в дальнейшем она снижается. Так что по мере развития ГЗТ к антигенам предстательной железы происходит снижение реактивности лимфоцитов. Для этого периода характерны устойчивые к 2-МЭ 7S-антитела. Если аутоиммунный процесс не завершается второй фазой, то он переходит в третью фазу, в которой не определяются циркулирующие аутоантитела, однако ГЗТ к антигенам предстательной железы выражена. Через 11 нед зафиксировано некоторое повышение ответа лимфоцитов на фитомиотогены.

Таким образом, характеризуя иммунологические процессы, развивающиеся после пролонгированного криовоздействия на предстательную железу, следует указать на волнообразные подъемы и спады реактивности лимфоцитов, возникновение в ряде случаев аутоиммунного процесса, физиологический и патологический характер иммунологических изменений. Если первая фаза, по-видимому, обусловлена повреждением ткани, то последующие явления отражают аутоиммунный процесс и развитие поражения в предстательной железе. Содержание органоспецифических антигенов ткани предстательной железы, подвергающейся криовоздействию, в определенной степени опосредует первичный иммунный ответ в виде образования 19S-аутоантител. Последующее развитие замедленной гиперчувствительности и образование 7S-аутоантител не зависят от содержания органоспецифических антигенов и, вероятно, отражают последующее развитие аутоиммунного процесса.

Список литературы

1. Авдеев Г. И., Гельбштейн М. И. Изучение содержания органоспецифического антигена (тиреоглобулина) в щитовидной железе человека и ее опухолях. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1964, 58, № 11, с. 99—102.
2. Чернышов В. П. Экспериментальные аутоиммунные поражения передміхурової залози та особливості її антигенності в ауто- та ізосистемі. — Фізіол. журн., 1977, 23, № 6, с. 798—804.
3. Ablin R. J. Cryosurgery of the monkey (macaque) prostate I. Humoral immunologic responsiveness following cryostimulation. — Cryobiology, 1976, 13, N 1, p. 47—53.
4. Calams J. A., Flanagan M. J., McDonald J. H. Rapid freezing of the prostate: an experimental study. — J. Urol., 1966, 96, N 4, p. 512—518.
5. Ehrlich R. M., Tannenbaum M., Roberts M., Lattimer J. K. Experimental prostate cryosurgery: a study utilizing radioautography and electron microscopy. — J. Urol., 1969, 101, N 6, p. 890—897.

Киевский институт заболеваний
почек и мочевыводящих путей

Поступила в редакцию
10.III 1982 г.

УДК 576.8.097.1:612.017.12:612.42

ОРГАНИЗАЦИЯ АНТИГ

В последние годы основные ли связаны с изучением иммунной модели действия при различных формах глобулинов разного класса, фазного типа, реакция на трансплантаты, микробных, паразитарных и т.д. осуществляется в результате с ним различных популяций и су

Антиген несет серию различных миграция и рециркуляция, дифференцировка, осуждения клеток друг с другом и бенностями молекулярной агрегированности и физико-химическим способом введения препаратов в

Как хорошо известно, в различных популяциях и субпопуляциях клетки (макрофаги, дендриты, лимфоциты и т.д.)

Именно особенности молекулярности эффекторных Т- и/или В-клетками.

При характеристике антигенности и иммуногенности понимают способность антигенов взаимодействовать с Т- и В-лимфоцитами и с антиген-специфическими рецепторами уникальной специфичности строения четвертичной и навание различных антигенных

Под иммуногенностью понимают иммунный ответ (продукция антиген-специфических Т-эффекторов) специфичность молекул антигенами их иммуногенность.

Характеристике антигенных реакций с помощью сывороток, посвящено большое количество работ [1, 6, 13, 37].

У В-лимфоцитов, которые в организм молекулярными рецепторами являются, молекулы-аналоги циркулирующих специфических антигенов, в основном распространены. Как и антитела, В-лимфоциты на поверхности молекулы антигена В-лимфоциты различаются по составу и функциям, образованные выступающими зоима, образованные с 64-го молекулы миоглобина [6]). Анти

ОРГАНИЗАЦИЯ АНТИГЕНА И АКТИВАЦИЯ В-ЛИМФОЦИТОВ

В последние годы основные успехи в области фундаментальной иммунологии были связаны с изучением иммунокомпетентных клеток, их свойств и особенностей взаимодействия при различных формах проявления иммунного ответа (продукция иммуноглобулинов разного класса, формирование повышенной чувствительности замедленного типа, реакция на трансплантаты, формирование толерантности, защита от вирусных, микробных, паразитарных агентов и др.). Инициация всех этих иммунных реакций осуществляется в результате попадания в организм антигена и взаимодействия с ним различных популяций и субпопуляций клеток, ответственных за иммунитет.

Антиген несет серию разнообразных сигналов, посредством которых стимулируется миграция и рециркуляция иммунокомпетентных клеток, вызывается их пролиферация и дифференцировка, осуществляются процессы взаимодействия иммунокомпетентных клеток друг с другом и клетками иного типа. Эти сигналы определяются особенностями молекулярной организации антигена, его трехмерной структурой, степенью агрегированности и физико-химическими свойствами, а также количеством и, иногда, способом введения препаратов в организм.

Как хорошо известно, в иммунном ответе на антиген кооперативно участвуют различные популяции и субпопуляции Т- и В-лимфоцитов и, так называемые вспомогательные клетки (макрофаги, дендритные клетки селезенки и др.).

Именно особенности молекулярной организации антигена и определяют потребность эффекторных Т- и/или В-клеток в кооперации друг с другом или вспомогательными клетками.

При характеристике антигенов принято рассматривать два главных их свойства: антигенность и иммуногенность. Под **антигенностью, или антигенной специфичностью** понимают способность антигенов взаимодействовать с антиген-специфическими рецепторами Т- и В-лимфоцитов и с такими продуктами их жизнедеятельности, как антитела и антиген-специфические регуляторные факторы [6, 37]. Это взаимодействие отличается уникальной специфичностью, так что лимфоциты способны различать особенности строения четвертичной и более низких структур молекул, осуществляя распознавание различных антигенных детерминант.

Под **иммуногенностью** понимают способность антигена *in vivo* или *in vitro* вызывать иммунный ответ (продукция антител, формирование толерантности, накопление антиген-специфических Т-эффекторных клеток). Детерминанты, определяющие антигенную специфичность молекул антигена могут не совпадать с участками, опережающими их иммуногенность.

Характеристике антигенной специфичности молекул, оцениваемой в серологических реакциях с помощью одноименных и перекрестно реагирующих иммунных сывороток, посвящено большое количество экспериментальных и обзорных статей [1, 6, 13, 37].

У В-лимфоцитов, которые могут непосредственно взаимодействовать с введенными в организм молекулярными и корпускулярными антигенами, антиген-распознающими рецепторами являются встроенные в клеточную мембрану иммуноглобулиновые молекулы-аналоги циркулирующих иммуноглобулинов. В связи с этим сведения об организации специфических антигенных детерминант, различаемых с помощью антител, в основном распространяются и на детерминанты, различаемые В-лимфоцитами. Как и антитела, В-лимфоциты хорошо распознают детерминанты, расположенные на поверхности молекулы антигена [37]. В сложных, «складывающихся» молекулах антигена В-лимфоциты различают так называемые конформационные детерминанты, образованные выступающими участками молекул (например, «петля» в молекуле лизоцима, образованная с 64-ого по 83-й аминокислотными остатками [2], «углы» в молекуле миоглобина [6]). Антигенная специфичность нативных белков в значительной

степени определяется такими конформационными детерминантами и поэтому сыворотки против нативных белков плохо или совсем не реагируют с их денатурированными аналогами, (например, восстановленный карбоксилитимированный лизоцин, окисленная РНКазы поджелудочной железы быка, сункционированный БСА и др. [13, 37]. Значение конформационных детерминант в обеспечении антигенной специфичности молекулы коллагена было показано при иммунизации морских свинок и кроликов синтетическим полимером (L-пролил-глицил-L-пролин), имеющим структуру витка, характерную для коллагена. Полученная против полимера сыворотка перекрестно реагировала с нативным коллагеном разного видового происхождения [7].

Удаление из металлосодежащих белков Fe (миоглобин, овотрансферрин) или Zn (щелочная фосфатаза) изменяло конформацию молекул и их антигенную специфичность [13].

Однако В-лимфоциты могут различать и антигенные детерминанты, образуемые несколькими последовательно расположенными остатками аминокислот в молекулах полипептидов или моносахаров в гликопротеидах и полисахаридах («последовательностные» детерминанты). Особенно большое значение в антигенной специфичности ветвящихся молекул синтетических полипептидов и естественных белков имеют поверхностно расположенные N- или C-концевые аминокислотные пептиды [6, 22, 37]. В построении антигенных детерминант полипептидов и гликопротеидов, различаемых В-клетками и антителами, принимают участие 4—8 аминокислотных остатка [36, 37] или 3—5 моносахаров [25], образующих участки связывания с анти-детерминантной иммуноглобулинов размером $34\text{--}36 \times 12 \times 7 \text{ \AA}$ [6, 24].

В динамике иммунного ответа иммунокомпетентные клетки взаимодействуют с все новыми и новыми ранее скрытыми детерминантами антигена, вызывая в организме накопление новых специфических клонов клеток и антител. Молекулы природных белков несут различаемые В-клетками детерминанты в среднем с плотностью одна детерминанта на полипептид с молекулярной массой 5.000 дальтон [13].

Как уже указывалось, иммуногенность антигенов предполагает их способность вызвать активацию антиген-реактивных В- или Т-лимфоцитов, их пролиферацию и дифференцировку.

В ходе активации В-лимфоцитов могут быть выделены четыре взаимно связанных процесса: а) превращение неделящегося малого лимфоцита в более активную крупную форму; б) серия делений этой клетки с накоплением клона В-клеток данной антигенной специфичности; в) развитие в клетке протеинсинтезирующего и протеинсекретирующего аппаратов, так что лимфоцит превращается в иммуноглобулин-секретирующую клетку; г) переключение секреции IgM на секрецию антител другого изотипа [33]. Часть размножающихся В-клеток могут не вступать в последующую стадию и превращаться в клетки «памяти». Хотя все эти процессы протекают параллельно, каждый из них оказывается чувствительным к различным регуляторным сигналам и воздействиям. Так, Т-хелперный фактор, воздействуя без специфического антигена, вызывает дифференцировку малых В-лимфоцитов в антитела-продуцирующие клетки, не стимулируя их митоза [17]; продуцируемые макрофагом факторы могут стимулировать превращение лимфоцитов в быстро делящиеся, но не секретирующие антител бластные клетки [38]. Некоторые молекулярные формы антигенов также могут преимущественно усиливать определенные процессы активации В-лимфоцитов. Так, монофункциональные антигены, молекулы которых имеют лишь одну функциональную группу — антигенную детерминанту, могут взаимодействовать с иммуноглобулиновыми антиген-специфическими рецепторами В-клеток, вызывая их пролиферацию, но не дифференцировку в антитела-секретирующие клетки. Монофункциональные антигены подают клетке только один сигнал, достаточный лишь для стимуляции ее деления. Таковыми монофункциональными антигенами являются гаптены, широко используемые сейчас в иммунологии при изучении молекулярных механизмов взаимодействия иммунокомпетентных клеток с антигеном (динитрофенол, тринитрофенол, фосфорил-холин, данцил-хлорид и др.).

Для превращения активированных В-лимфоцитов в антитела-секретирующие клетки и, в особенности, для переключения в последних процесса секреции IgM на антитела иного изотипа необходимо подать клетке еще несколько иных «сигналов». Эти сигналы могут возникать в результате взаимодействия той же клетки не только с антиген-специфической детерминантой, но и с другими функциональными группами мо-

лекулы полифункционального антигена Т-лимфоцитами «помощниками» и также должен быть полифункциональным В-клетку через антиген-специфическую кооперацию В- и Т-клеток. Гуморальный иммунный ответ назван тимус-независимым, ил

Антигены, при взаимодействии с Т-лимфоцитами секретирующие клетки тимус-зависимыми антигенами (тановлено, что в случае TD-антиген-специфической детерминанты — с остальной частью молекулы. Таким образом, TD-антигены совершают операцию с Т-лимфоцитами. Отвечают от кооперации отвечающие антигены [15]. Выдвинуто необходимо подать на клетку с гена через антиген-специфическую тогда как последующие сигналы ональными группами антигенов

Тимус-независимые антигены вторичность в молекуле тех же лекулярная масса [3], способны В-лимфоцитов [12] и способны таблицу).

Характеристики

1. Многократная повторяемость
2. Способность к поликлональности
3. Способность к альтернативности
4. Высокая молекулярная масса
5. Отвечающие клетки

на TI-1

- а) В-клетки новорожденных
- б) Незрелые В-клетки
- в) В-клетки мышей линии

6. Антигены типа:

TI-1

липолисахариды, экстракты *Brucellae* abo *Nocardia*

TI-антигены при первичном слабо или не вызывают накопления

TI-антигены сейчас приняты к антигенам отнесены конъюгаты микробов кишечной группы, I К TI-2 отнесены конъюгаты пневмококка — III, фикола, гены способны взаимодействовать антигены могут стимулировать синтез СВА/N, В-клетки которые гены стимулируют клетки селезенки мышей линии СВА/N. С TI-В-клеток фенотипа «μ+», лимфоцитов IgD-изотипа [43]. (см. табл. 1)

Таким образом, при введении вариантов TI-носителя в им-

лекулы полифункционального антигена или в результате взаимодействия В-клетки с Т-лимфоцитами «помощниками» или другими клетками. В последнем случае антиген также должен быть полифункциональным и обеспечивать не только подачу «сигнала» на В-клетку через антиген-специфические иммуноглобулиновые рецепторы, но и способствовать кооперации В- и Т-клеток. Полифункциональные антигены, способные вызывать гуморальный иммунный ответ без участия в нем Т-клеток «помощников», были названы тимус-независимыми, или TI-антигенами (англ. independent — независимый).

Антигены, при взаимодействии с которыми В-клетки для дифференцировки в антитела-секретирующие клетки нуждаются в кооперации с Т-лимфоцитами, называются тимус-зависимыми антигенами (TD, сокращенно от англ. dependent — зависимый). Установлено, что в случае TD-антигенов отвечающие В-клетки взаимодействуют с антиген-специфической детерминантой (гаптенная группа) молекулы, а Т-клетка помощник — с остальной частью молекулы, выступающей как бы в роли «носителя» гаптена. Таким образом, TD-антигены способны стимулировать В-клетки и обеспечить их кооперацию с Т-лимфоцитами. Ответ В-клеток на корпускулярные антигены меньше зависит от кооперации отвечающих В-клеток с Т-помощниками, чем ответ на молекулярные антигены [15]. Выдвинуто предположение [8], что для активации В-лимфоцитов необходимо подать на клетку сигналы двух типов. Позднее стало ясно, что для этого необходимо большее количество отличающихся сигналов [43]. В-детерминанты антигена через антиген-специфические Ig-рецепторы подают В-клетке лишь сигнал «1», тогда как последующие сигналы ей подаются через другие рецепторы иными функциональными группами антигенов или кооперирующими клетками и их продуктами.

Тимус-независимые антигены отличает многовалентность, т. е. многократная повторяемость в молекуле тех же антигенных детерминант [16], достаточно высокая молекулярная масса [3], способность выступать в качестве поликлональных митогенов В-лимфоцитов [12] и способность активировать С3 компонент комплемента [14] (см. таблицу).

Характеристика тимус-независимых (TI) антигенов

1. Многократная повторяемость идентичных антигенных детерминант.
2. Способность к поликлональной митогенной активации В-клеток.
3. Способность к альтернативной активации С3.
4. Высокая молекулярная масса.
5. Отвечающие клетки

на TI-1

- а) В-клетки новорожденных мышей
- б) Незрелые В-клетки фенотипа μ^+
- в) В-клетки мышей линии CBA/N

на TI-2

- а) В-клетки взрослых мышей
- б) Более зрелые В-клетки фенотипа $\mu^+\sigma^+$

6. Антигены типа:

TI-1

липополисахариды,
экстракты *Brucellae abortus*,
Nocardia

TI-2

полисахариды пневмококка-III,
фиколл,
декстран,
полиакриламидные частицы
липосомы

TI-антигены при первичном ответе вызывают образование антител класса IgM и слабо или не вызывают накопление IgG-антител и клеток иммунологической памяти.

TI-антигены сейчас принято подразделять на две категории: TI-1 и TI-2. К TI-1 антигенам отнесены конъюгаты, в которых гаптены конъюгированы с липополисахаридом микробов кишечной группы, *Brucellae abortus*, водорастворимым экстрактом *Nocardia*. К TI-2 отнесены конъюгаты, приготовленные на основе капсульных полисахаридов пневмококка — III, фикола, полиакриламидных частиц, декстрана. TI-1 и TI-2 антигены способны взаимодействовать с различными популяциями В-лимфоцитов. Так, TI-1 антигены могут стимулировать клетки селезенки новорожденных мышей и мышей линии CBA/N, В-клетки которых имеют связанные с X-хромосомой дефекты. TI-2-антигены стимулируют клетки селезенки взрослых животных и не стимулируют В-клетки мышей линии CBA/N. С TI-1-антигенами взаимодействуют популяции менее зрелых В-клеток фенотипа « μ^+ », лишенные функционирующих антиген-специфических рецепторов IgD-изотипа [43]. (см. таблицу).

Таким образом, при введении животному гаптена на основе TD- или различных вариантов TI-носителя в иммунный ответ вовлекаются различные популяции В-лимфо-

цитов, отличающиеся различной зависимостью от Т-помощников [32], устойчивостью к воздействию толерогенов и к антиидиотипической супрессии, [18] выраженностью рецепторов к СЗ компоненту комплемента [28]. Интересно, что содержание отвечающих на декстран Т-зависимых В-клеток у мышей линии BALB/c приблизительно в 3 раза превышало содержание В-предшественников, способных к тимус-независимому ответу [44].

Как поликлональные стимуляторы Т1-антигены воздействуют на В-клетки не только через антиген-специфические Ig-рецепторы, но своими митогенными участками могут взаимодействовать с митогенными рецепторами В-лимфоцита [19]. Митогенные рецепторы у В-лимфоцитов физически отделены от антиген-специфических Ig-рецепторов

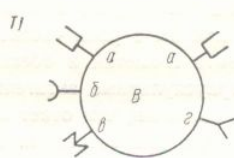


Рис. 1. Рецепторы В-клеток (В), участвующие в их активации тимус-независимыми (Т1) и тимус-зависимыми (ТД) антигенами.

Рецепторы клеток: а — Ig — рецептор антигенной детерминанты; б — рецептор митогенов; в — рецептор СЗ; г — рецептор Т-хелперного фактора.

[45] (рис. 1). Взаимодействие многих В-клеток с митогенными детерминантами Т1-антигенов приводит к активации многих клонов В-лимфоцитов разной антигенной специфичности. Однако поликлональная митогенная активность Т1-антигенов проявляется не всегда и, например, такие поликлональные стимуляторы В-клеток мышей, как липополисахарид, у хомяков ЛНС, стимулировали только клоны антиген-специфических В-лимфоцитов [21]. По мнению автора [21], резистентность В-лимфоцитов хомяков ЛНС к поликлональному стимулу связана с генетически опосредованным нарушением у этих клеток способности отвечать на митогенный сигнал.

Были предприняты попытки охарактеризовать некоторые физические свойства Т1-антигенов, обеспечивающие их способность активировать В-клетки. На модели гаптеризированных липосом было установлено, что оптимальный ответ В-клеток мышей наблюдается при стимуляции их липосомами с плотностью распределения гаптена на поверхности липосомы 1/1000 кв. Å. [42]. Это соответствует расстоянию между гаптенными группами на носителе в 32 Å и обеспечивает оптимальные условия взаимодействия с гаптенами в липосоме гаптен-специфических Ig-рецепторов В-лимфоцитов.

В случае монофункциональных антигенов на липосомальной основе оптимальная эпитопная плотность является наиважнейшим условием их иммуногенности, и, изменяя только эпитопную плотность, удается превращать гаптенизированные липосомы из высоко активного иммуногена (содержание гаптена в липосомах 5—10 %) в толероген (содержание гаптена в липосомах 0,6—1,2 %) [23, 42].

Однако Т1-антигены, лишенные митогенной активности, все же могут в присутствии Т-помощников стимулировать В-клетки, но только клон антиген-специфических В-лимфоцитов. Так, полиакриламидные частицы с высокой эпитопной плотностью тринитрофенола (ТНФ) не обладают поликлональной митогенной активностью, однако стимулируют секрецию В-клетками антител к гаптenu без помощи Т-лимфоцитов [34]. Избирательной блокадой антителами Ig-рецепторов различного изотипа удалось показать, что активация В-лимфоцитов в этом случае осуществляется в результате взаимодействия с антигеном многих IgM, но не IgD-рецепторов клетки. Те же частицы с низкой эпитопной плотностью гаптена для активации В-клеток нуждались в Т-хелперных факторах или Т-помощниках.

Таким образом, для активации В-лимфоцитов Т1-антигены должны иметь несколько различных функциональных группировок: антиген-специфическую детерминанту, В-митогенную детерминанту, детерминанту фиксации СЗ компонента комплемента. При взаимодействии рецепторов В-лимфоцитов с соответствующими группировками Т1-антигенов в клетку поступает серия «сигналов». Сигналом «1», на который клетка отвечает пролиферацией, может быть взаимодействие рецептора лимфоцита с антиген-специфической или митогенной детерминантой Т1-антигена. Сигналом «2» и «3», обеспечивающими дифференцировку В-лимфоцита в антитело-секретирующие клетки (рис. 2), может явиться раздражение различных рецепторов клетки или суммация раздраже-

ния многих идентичных антиген-леднее оказывается возможным Т1-антигенов, отличающихся многообразием и высокой молекуляр-

Разнообразные сигналы, по функциональным Т1-антигенами, кооперирующихся с В-клетками, являются поликлональными, активируются активацией многих клонов лимфоцитов и повышенной проницаемостью в организме антител различной специфичности.

Генетические ограничения мунного ответа на ТД-антигены шествляются на уровне вспомогательных клеток (макрофаги), представляющих антигены Т-лимфоцита [35]. В связи с этим, конъюгируя молекулы антигена с Т1 носителями, в ряде случаев удается получать гены, В-клеточный ответ на которые менее зависит от кооперации Т-лимфоцита с Т-клетками и макрофагами, следовательно, и от контростороны Ig-генов [1, 11].

Рис. 2. Механизмы активации тимус-независимыми и тимус-зависимыми антигенами.

Молекула Т-зависимого должна, как минимум, быть с антиген-специфическим рецептом (а) и б) участок взаимодействия. Именно «носитель» обеспечивает взаимодействие на ТД-антигены. Молекулы динитрофенола, тринитрофенола и другие, используемые в гуморальном ответе [26]. Одновременно или с корпускулярными Т-клеточный ответ.

Современные представления о формировании иммунного ответа сформировались благодаря применению различных вариантов клеточного иммунного ответа В-лимфоцитов и секреторных детерминант гаптена и Т-клеточной длины [9]. Длина «сигнального» антиген-специфического рецептора митогенными, не мешающими в качестве одной из детерминант пента-пептиды ферредоксина молекулы в целом должна не обеспечивать иммуногенности.

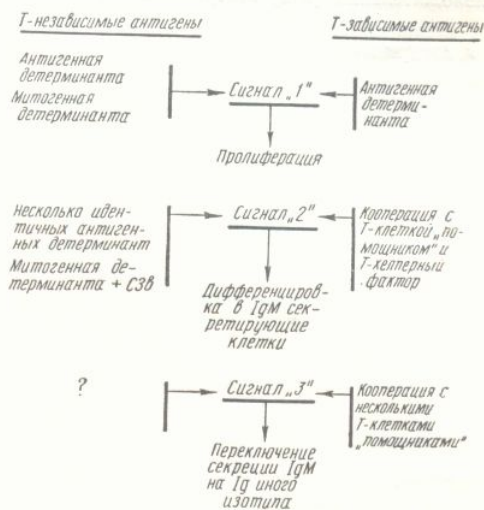
Симметричный бифункциональный пептид использовался в качестве «связки» между детерминантами, обеспечивающий дос-

ния многих идентичных антиген-специфических иммуноглобулиновых рецепторов. Последнее оказывается возможным благодаря особенностям молекулярной организации Т1-антигенов, отличающихся многократной повторяемостью идентичных антигенных детерминант и высокой молекулярной массой.

Разнообразные сигналы, подаваемые на В-клетку при ее взаимодействии с полифункциональными Т1-антигенами, заменяют В-клетке сигналы Т-хелперных лимфоцитов, кооперирующих с В-клетками при иммунном ответе на ТД-антигены. Поскольку Т1-антигены являются поликлональными В-митогенами, иммунный ответ на них характеризуется активацией многих клонов В-лимфоцитов и повышенной продукцией в организме антител разной специфичности.

Генетические ограничения иммунного ответа на ТД-антигены осуществляются на уровне вспомогательных клеток (макрофаги), представляющих антигены Т-лимфоцитам [35]. В связи с этим, конъюгируя молекулы антигена с Т1 носителем, в ряде случаев удается получать антигены, В-клеточный ответ на которые менее зависит от кооперации В-лимфоцита с Т-клетками и макрофагом, и, следовательно, и от контроля со стороны Ig-генов [1, 11].

Рис. 2. Механизмы активации В-клеток тимус-независимыми и тимус-зависимыми антигенами.



Молекула Т-зависимого антигена для индукции гуморального иммунного ответа должна, как минимум, быть бифункциональной и иметь: а) участок взаимодействия с антиген-специфическим рецептором В-клетки (антиген-специфическая детерминанта гаптена) и б) участок взаимодействия с Т-клеткой (детерминанта «носителя») (рис. 3). Именно «носитель» обеспечивает кооперацию В- и Т-клеток в иммунном ответе В-лимфоцитов на ТД-антигены. Моновалентные антигены, как например гаптенные группировки динитрофенола, тринитрофенола, азо-фениларсената, фосфорил-холина, пенициллоила и другие, используемые для иммунизации без «носителя», обычно, не вызывают гуморального ответа [26]. Однако конъюгация их с белковым или полипептидным иммуногеном или с корпускулярными носителями позволяет получать против этих гаптенных В-клеточный ответ.

Современные представления о функциональной организации молекул антигенов сформировались благодаря широкому использованию в последние 10 лет в экспериментальной иммунологии синтетических антигенов известного строения. В результате применения различных вариантов таких молекул для индукции *in vivo* и *in vitro* гуморального и клеточного иммунных ответов было установлено, что вызвать пролиферацию В-лимфоцитов и секрецию ими иммуноглобулинов могут молекулы, состоящие из детерминанты гаптена и Т-детерминанты «носителя», соединенных «связкой» определенной длины [9]. Длина «связки» должна быть такова, чтобы обеспечить возможность антигенспецифическим рецепторам Т- и В-клеток взаимодействовать с соответствующими детерминантами, не мешая друг другу. В случае полусинтетического антигена, у которого в качестве одной детерминанты использовали N-концевой, а другой — С-концевой пента-пептиды ферредоксина такая «связка» для обеспечения иммуногенности молекулы в целом должна была иметь длину декаглицина. «Связка» из пентаглицина не обеспечивала иммуногенной активности молекулы [27].

Симметричный бифункциональный антиген, где в качестве обеих детерминант использовали 1-тирозин-азо-бензенарсенат, вызывал иммунный ответ только, если в качестве «связки» между детерминантами, длиной 31—32 А, был использован поли (пролин)₁₀, обеспечивающий достаточную ригидность междетерминантной связи [20]. За-

мена полипропиновой связки на связку из одного — шести остатков 6-аминокапроновой кислоты (гибкая связь длиной 8—48 Å), сопровождалась утратой иммуногенности этого антигена. Несмотря на гибкую связь между гаптеном и Т-детерминантой, замещение электроотрицательных арсенатных групп в гаптенах на электроположительные группы триметиламмония превращало симметричный неиммуногенный бифункциональный антиген в иммуноген, индуцирующий образование антител против гаптенной группы [20].

Азо-бензен-арсенат имеет, как электроотрицательные (арсенат), так и электроположительные (азо) центры, так что соединенные гибкой связью две идентичных де-

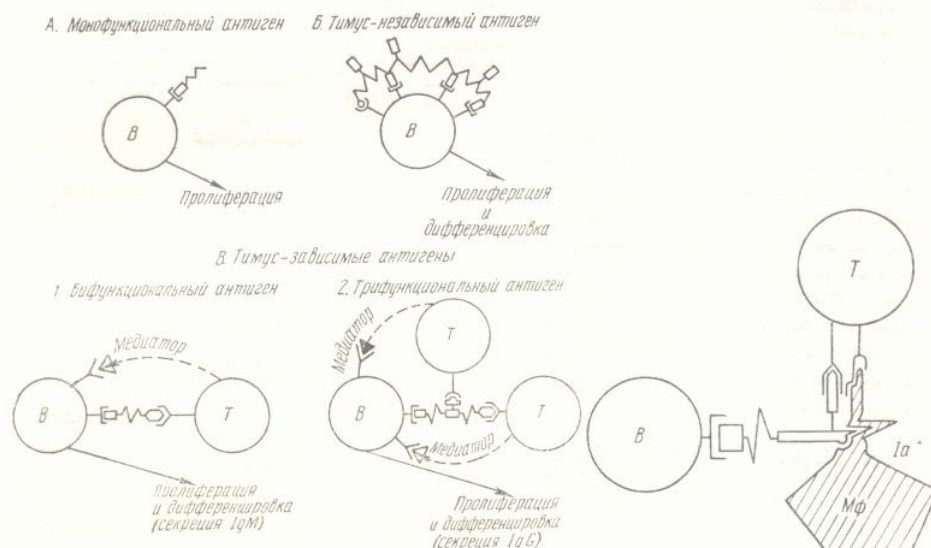


Рис. 3. Взаимодействие В-клеток с монофункциональным (А), тимус-независимым (Б) и тимус-зависимыми бифункциональным (В-1) и трифункциональным (В-2) антигенами и Т-лимфоцитами помощниками (схема).

Результаты взаимодействия обозначены стрелкой. В-клетка — В; Т-клетка — Т.

Рис. 4. Модель взаимодействия В-лимфоцита (В), Т-лимфоцита (Т) и макрофага (Мφ) с тимус-зависимым полифункциональным антигеном.

терминанты в бифункциональном антигене могут взаимодействовать друг с другом и «складываться» (внутримолекулярное «стогование» детерминант). Такое «стогование» гаптенных детерминант не обеспечивает кооперации В-лимфоцита с Т-клеткой, а следовательно, и гуморального иммунного ответа на антиген [20]. Введение положительно заряженных групп в гаптены, делает по мнению авторов, модифицированный антиген резистентным к «стогованию» детерминант и, поэтому, способным обеспечивать кооперацию взаимодействующих с ним иммунокомпетентных клеток [20].

Мембраны лимфоцитов и макрофагов заряжены отрицательно [31] и даже неспецифически могут лучше удерживать позитивно заряженные детерминантные группы антигенов. Т-лимфоциты — «помощники», как известно, взаимодействуют с антигеном, находящимся в ассоциации с Ia-белком мембран вспомогательных клеток (макрофага [29, 35], дендритные клетки селезенки [40], клетки Лангерганса [41]). Участок связки, между Т- и В-детерминантами, по-видимому, может быть местом взаимодействия Ia⁺ макрофагов с молекулой антигена. Размеры участка взаимодействия Ia-белков с антигеном ограничиваются аминокислотной последовательностью из трех-четырех аминокислотных остатков [4, 5]. Генетически контролируемый иммунный ответ на те или иные детерминанты TD-антигенов отчасти определяется свойствами имеющихся у иммунокомпетентных клеток животных Ia-белков, посредством которых вспомогательные клетки «представляют» антиген в высоко иммуногенной форме Т-лимфоцитам [4, 35] (рис. 4). Поэтому «носитель» гаптена у TD-антигенов должен иметь участок взаимодействия с Ia-белками вспомогательных клеток и участок взаимодействия с антиген-специфическим рецептором Т-лимфоцита «помощника». Взаиморасположение распо-

наваемых В- и Т-клетками детерминант этих клеток в иммунном ответе имеет решающее значение. Считается, что изменение соотношения секретируемых антител, синтез антител другого изотипа, зависит от носителя гаптена [39]. Носитель из девяти аминокислотных остатков и даже при пов-

тором изотипа В-клетка нуждается в Т-клетке, «носитель» имеет один терминант, распознаваемый Т-клеткой. В связи с высокой функцией, которую выполняют Т-клетки, подавая различные сигналы, отличающиеся «сигналом» В-клетки, могут, один изотип В-клетки, обладающей с В-лимфоцитом Т-клеткой, молекулы антигена, «носитель» второго Т-эпитопа, может, один терминант, распознаваемый Т-клеткой.

В связи с высокой функцией, которую выполняют Т-клетки, подавая различные сигналы, отличающиеся «сигналом» В-клетки, могут, один изотип В-клетки, обладающей с В-лимфоцитом Т-клеткой, молекулы антигена, «носитель» второго Т-эпитопа, может, один терминант, распознаваемый Т-клеткой.

Таким образом, TD-антигены функциональны и обладают кооперативной В-клеткой, несколькими клеточной кооперации с гаптеном, а с антиген-специфическим макрофагом представляющим В-лимфоциты TD-антиген-специфического Ig-рецепта взаимодействующих с различными (рис. 2).

Процессы антигенной активности, хотя необходимо подаваться В-лимфоцитам, не присоединение В-детерминант изменения свойств «носителя» иммунной активности. Т-независимыми «носителями» иммунный ответ без помощи ассоциации молекул антигена представляемых Т-лимфоцитами в кооперацию с В-лимфоцитами. Технология искусственно определенными свойствами, очевидно, сколько перспектив управления иммунным от-

1. Петров Р. В., Хаитов Р. В. Современная биология, 1979, 8.
2. Arnon R., Sela M. Antibody-antigen conjugate. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1974, 71, 10, 3500.
3. Basten A., Howard J. The immune response. New York: Plenum Press, 1976, 1.

наваемых В- и Т-клетками детерминант в молекуле TD-антигена должно обеспечить кооперацию этих клеток в иммунном ответе. В случае Т-зависимых антигенов, «носитель» имеет решающее значение в иммуногенности всей молекулы. Модификация «носителя» сопровождается изменением способности антигена примировать В-клетки, стимулировать секрецию антител, переключать В-клетку с синтеза IgM-глобулинов на синтез антител другого изотипа. Так, у мышей образование анти ДНФ-антител происходило, если носителем гаптена был полипептид из 12 аминокислот (глут-тироз-лиз)₄ [39]. Носитель из девяти аминокислотных остатков мог обеспечить только «примирование» клеток и даже при повторном введении не стимулировал продукции антител.

С помощью синтетических TD-антигенов недавно удалось охарактеризовать некоторые структурные особенности «носителя», необходимые для переключения В-лимфоцитов с секреции IgM на секрецию IgG-глобулинов [10]. Молекулы биофункционального антигена типа гаптен-связка-эпитоп «носителя» (ДНФ-связка-l-тирозин-р-азобензен-р-арсонат) вызывали индукцию только IgM антител. Переключение клеток с секреции IgM на IgG-глобулины происходило при их стимуляции трифункциональным антигеном, где «носитель» имел два идентичных или отличающихся Т-эпитопа (рис. 3). По мнению авторов, для переключения с секреции антител класса IgM на антитела другого изотипа В-клетка нуждается в дополнительных сигналах от второй кооперирующей с В-лимфоцитом Т-хелперной клетки. Обеспечить такую кооперацию могут молекулы антигена, «носитель» у которых имеет не менее двух Т-эпитопов. В качестве второго Т-эпитопа, может, однако выступать и сама «связка» между гаптеном и детерминантой, распознаваемой Т-клеткой (Т-эпитоп) [10].

В связи с высокой функциональной гетерогенностью Т-хелперных клеток, с несколькими даже идентичными эпитопами носителя могут взаимодействовать Т-клетки разных субпопуляций, подавая при этом кооперирующей В-клетке несколько качественно отличающихся «сигналов» (рис. 2).

Таким образом, TD-антигены для активации В-лимфоцитов должны быть полифункциональными и обладать способностью обеспечивать взаимодействие с антигеном кооперативно В-клетки, нескольких Т-клеток и макрофага (рис. 3). При такой многоклеточной кооперации с гаптенной детерминантой TD-антигена взаимодействует В-клетка, а с антиген-специфическими детерминантами «носителя» — Т-клетки хелперы, которым макрофаги представляют антиген в ассоциации с Ia-белками. В случае стимуляции В-лимфоцитов TD-антигенами сигналом «1» для них является раздражение антиген-специфического Ig-рецептора, а сигналами «2» и «3» — раздражение рецепторов, взаимодействующих с различными продуцируемыми Т-лимфоцитами хелперными факторами (рис. 2).

Процессы антигенной активации В-лимфоцитов TI- и TD-антигенами имеют много сходства, хотя необходимые для активации клеток сигналы могут в обоих случаях подаваться В-лимфоцитам через различные рецепторы. В связи с этим искусственное присоединение В-детерминант (гаптен) к различным «носителям» или направленные изменения свойств «носителя» позволяют получать антигенные препараты необходимой иммунной активности. Так, при конъюгации нескольких идентичных гаптенов с Т-независимыми «носителями» удается получать конъюгаты, вызывающие В-клеточный иммунный ответ без помощи Т-лимфоцитов помощников. Наоборот, в результате ассоциации молекул антигена с Ia-белками, получают антигенные комплексы легко представляемые Т-лимфоцитам [30] и, следовательно, активно вовлекающие Т-клетки в кооперацию с В-лимфоцитами при иммунном ответе на соответствующие антигены. Технология искусственного конструирования антигенов и вакцинных препаратов с определенными свойствами еще только начинает создаваться, но уже сейчас совершенно очевидно, сколь перспективно это направление при разработке средств и способов управления иммунным ответом организма в клинике и эксперименте.

Список литературы

1. Петров Р. В., Хаитов Р. М. — Иммунный ответ к искусственным антигенам. Успехи соврем. биологии, 1979, 88, вып. 3(6), с. 307—321.
2. Arnon R., Sela M. Antibodies to a unique region lysozyme provoked by a synthetic antigen conjugate. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1969, 62, p. 163—170.
3. Basten A., Howard J. Thymus independence. — In: Contemporary Topics in Immunology. New York: Plenum Press, 1975, p. 21—46.

4. Benacerraf B. A hypothesis to relate the specificity of T lymphocytes and the activity of I region-specific Ir genes in macrophages and B lymphocytes.— *J. Immunology*, 1978, 120, N 6, p. 1809—1978.
5. Benacerraf B. Genetic control of specificity of T lymphocytes and their regulatory products.— In: *Immunology* 80. London; New York: Acad. Press, 1980, p. 419—431.
6. Benjamini E., Michaeli D., Young J. D. Antigenic determinants of proteins of defined sequences.— *Current Topics in Microbiology and Immunology*. Berlin etc. 1972, 58, p. 85—134.
7. Borek F., Kurtz J., Sela M. Immunological properties of a collagen-like synthetic polypeptide.— *Biochimica et biophysica acta*, 1969, 188, N 2, p. 314—323.
8. Bretscher P., Cohn M. Theory of self-nonself discrimination.— *Science*, 1970, 169, p. 1042—1049.
9. Bush M. E., Alkan S. S., Nitecki D. E., Goodman J. W. Antigen recognition and immune response.— *J. Exp. Med.*, 1972, 136, p. 1478—1483.
10. Chen P., Nitecki D. E., Lewis G. K., Goodman J. W. Antigen structural requirements for immunoglobulin isotype switching in mice.— *J. Exp. Med.* 1980, 152, N 6, p. 1670—1683.
11. Coutinho A., Gronowicz E., Möller G. The role Ig-receptors in antigen-induced activation of B-lymphocytes.— *Progress in Immunology II*, Amsterdam—Oxford, 1974, vol. 2, p. 167—176.
12. Coutinho A., Moller G. Immune activation of B cells: evidence for one nonspecific triggering signal not delivered by the Ig-receptors.— *Scand. J. Immunol.*, 1974, 3, N 1, p. 133—142.
13. Crumpton M. J.— *Protein Antigens: The molecular bases of antigenicity and immunogenicity*.— In: *Antigens*. New York: Acad. Press. Vol. 2, 1974, p. 1—79.
14. Dukor P. G., Schumann R. H., Gisler M. et al. Complement dependent B cell activation by cobra venom factor and other mitogens.— *J. Exp. Med.*, 1974, 139, N 2, p. 377—392.
15. Erb P., Vogt P., Meier B., Feldman M. The role of macrophages in the generation of T helper cells. V. Evidence for differential activation of short-lived T_1 and long-lived T_2 lymphocytes by the macrophage factors GRF and NMF.— *J. Immunol.*, 1977, 119, N 1, p. 206—209.
16. Feldman M., Basten A. The relationship between antigenic structure and requirement for thymus derived cells in the immune response.— *J. Exp. Med.*, 1971, 134, N 1, p. 103—117.
17. Fu S. M., Chorazzi N., Hurley J. N. et al. Differentiation of leukemic B-lymphocytes in man.— In: *Cells of immunoglobulin synthesis*. New York: Acad. Press, 1979, p. 127—138.
18. Fung J., Köler H. Immune response to phosphorylcholine VII. Functional evidence for three separate B cell subpopulations responding to TI and TD PC-Antigens.— *J. Immunol.*, 1980, 125, N 2, p. 640—646.
19. Fujiwara M., Cinader B. Cellular aspects of tolerance. V. The in vivo cooperative role of accessory and thymus derived cells in responsiveness and unresponsiveness of SJL mice.— *Cellular immunology*, 1974, 12, N 2, p. 194—204.
20. Goodman J. W., Bellone C. J., Hanes D., Nitecki D. E. Antigen structural requirements for lymphocyte triggering and cell cooperation.— *Progress in Immunology II*. Amsterdam—Oxford, 1974, vol. 2, p. 27—37.
21. Hare J. A., Ahmed A., Sell K. W. In vitro and in vivo response of lymphoid cells from LHC hamsters to murine thymus-independent and thymus-dependent antigens.— *Immunology*, 1980, 41, p. 705—714.
22. Harvey M. A., Adorini L., Miller A., Sercarz E. E. Lysozyme-induced T-suppressor cells and antibodies have a predominant idiotype.— *Nature*, 1979, 281, p. 594—596.
23. Humphries G. M. Evidence for direct control of an in vitro plaque-forming cell response by quantitative properties of intact, fluid, haptenated liposomes: a potential model system for antigen presentation by macrophages.— *J. Immunol.*, 1981, 126, N 2, p. 688—692.
24. Kabat E. A. Inhibition reactions.— In: *Experimental Immunochemistry*. Springfield: Ch. C. Tomas, 1961, p. 241—267.
25. Kabat E. A. Structural concept in immunology and immunochemistry.— New York, 1968.
26. Leskowitz S., Jones V. E., Zak S. J. Immunochemical study of antigenic specificity in delayed hypersensitivity. V. Immunization with monovalent low molecular weight conjugates.— *J. Exp. Med.*, 1966, 123, N 1, p. 229—242.
27. Levy J. G., Hull D., Kelly B. et al. The cellular immune response to synthetic peptides containing sequences known to be haptenic in performic acid-oxidized ferredoxin from *Clostridium pasteurianum*.— *Cellular Immunology*, 1972, 5, p. 87—97.
28. Lewis G. K., Ranken R., Nitecki D. E., Goodman J. W. Murine B-cell subpopulations responsive to T-dependent and T-independent antigens.— *J. Exp. Med.*, 1976, 144, N 2, p. 382—397.
29. Lipscomb M. F., Toews G. B., Lyons C. R., Uhr J. W. Antigen presentation by guinea pig alveolar macrophages.— *J. Immunol.*, 1981, 126, N 1, p. 286—291.
30. Lonai P., Steinman L., Friedman V. et al. Specificity of antigen by T cells; competition between soluble and Ia-associated antigen.— *Eur. J. Immunol.* 1981, 11, p. 382—387.
31. Mehrishi J. N. Molecular aspects of physics and Molecular Biology.
32. Mond J. J., Mongini P. K. A the response to TNP-AESM-F.
33. Nossal G. J. V., Pike B. L. A Immunology 80. New York: A
34. Pure E., Vitetta E. The mur relationship between the opit cell help and surface IgD.— J
35. Rosenthal A. S., Thomas J. genetic control of the immun 1980, p. 458—477.
36. Schechter I., Schechter B., S D-alanine peptide specificity activation.— *Biochim. and. bi*
37. Sela M. Antigenicity: some 1374.
38. Shortman K., Howard M. C XIV. Non specific effects of tor» subset at primary B cel
39. Singh B., Lec K. C., Fraga priming and triggering of l of synthetic peptide antige p. 1336—1343.
40. Steinman R. M., Witmer M primary mixed leukocyte re p. 5132—5136.
41. Stingl G., Katz S. J., Clem Langerhans cells.— *J. Imm*
42. Tadakuma T., Yasuda T., I the in vitro immunogenici Immunol., 1980, 124, N 5,
43. Uhr J., Vitetta E. S. Rec In: Cells of immunoglob
44. Ward R., Köhler H. Regul se of T-dependent and T p. 146—149.
45. Wigzell H., Binz H. Lym Acad. Press, 1980, p. 94—

Институт иммунологии
АНН СССР

УДК 577.27

ПОЛУЧЕНИЕ МОНОС МОНОСПЕЦИФИЧ В ИММ

Успехи, достигнутые в этом направлении, в основном обязаны широким применением культур клеточных линий. Культивирование лимфоцитов привело к получению гибридом, секретирующих антитела. Такие клетки обладают свойствами и имеют характеристики. Это позволило накапливать антитела химическими методами макромолекулярных генов, растворов моноклональных антител, интерферона и др. из лимфоцитов.

Если культивировать несколько десятилетий и яв

31. Mehrishi J. N. Molecular aspects of the mammalian cell surface.— *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 1972, 25, p. 1—70.
32. Mond J. J., Mongini P. K. A., Sieckmann D., Paul W. E. Role of T-lymphocytes in the response to TNP-AESM-Ficoll.— *J. Immunol.*, 1980, 125, N 3, p. 1066—1070.
33. Nossal G. J. V., Pike B. L. Antibody receptor diversity and diversity of signals.— In: *Immunology* 80. New York: Acad. Press, 1980, p. 136—152.
34. Pure E., Vitetta E. The murine B cell response to TNP-polyacrylamide beads: the relationship between the epitope density of the antigen and the requirements for T cell help and surface IgD.— *J. Immunol.*, 1980, 125, N 1, p. 420—427.
35. Rosenthal A. S., Thomas J. W., Schroer J., Blake J. T. The role of macrophages in genetic control of the immune response.— In: *Immunology* 80. New York: Acad. Press, 1980, p. 458—477.
36. Schechter I., Schechter B., Sela M. Combining sites of antibodies with L-alanine and D-alanine peptide specificity and the effect of serum proteolytic activity on their activation.— *Biochim. and biophys. acta*, 1966, 127, p. 438—456.
37. Sela M. Antigenicity: some molecular aspects.— *Science*, 1969, 166, N 12, p. 1365—1374.
38. Shortman K., Howard M. C., Baker J. Antigen-initiated B-lymphocyte differentiation. XIV. Non specific effects of antigen stimulation cause proliferation in «pre-progenitor» subset at primary B cells.— *J. Immunol.*, 1978, 121, p. 2060—2065.
39. Singh B., Lec K. C., Fraga E. W. et al. Minimum peptide sequences necessary for priming and triggering of humoral and cell-mediated immune responses in mice: use of synthetic peptide antigens of defined structure.— *J. Immunol.*, 1980, 124, N 3, p. 1336—1343.
40. Steinman R. M., Witmer M. D. Lymphoid dendritic cells are potent stimulators of the primary mixed leukocyte reaction in mice.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1978, 75, N 10, p. 5132—5136.
41. Stingl G., Katz S. J., Clement L. et al. Immunologic functions of Ia-bearing epidermal Langerhans cells.— *J. Immunol.*, 1978, 121, N 5, p. 2005—2013.
42. Tadakuma T., Yasuda T., Kinsky S. C., Pieree C. W. The effect of epitope density on the in vitro immunogenicity of hapten-sensitized liposomal model membranes.— *J. Immunol.*, 1980, 124, N 5, p. 2175—2179.
43. Uhr J., Vitetta E. S. Receptor-mediator triggering and tolerance in murine B-cell.— In: *Cells of immunoglobulin synthesis*. New York: Acad. Press, 1979, p. 155—163.
44. Ward R., Köhler H. Regulation of clones responding to dextran B 1355 S. II. Response of T-dependent and T-independent precursors.— *J. Immunology*, 1981, 126, N 1, p. 146—149.
45. Wigzell H., Binz H. Lymphocyte receptors.— In: *Immunology* 80. London; New York: Acad. Press, 1980, p. 94—104.

Институт иммунологии
АМН СССР

Поступила в редакцию
9.II 1982 г.

УДК 577.27

С. В. Комиссаренко

ПОЛУЧЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ И ПРИМЕНЕНИЕ МОНОСПЕЦИФИЧЕСКИХ И МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В ИММУНОХИМИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

Успехи, достигнутые за последние годы в области современной иммунологии, во многом обязаны широкому использованию в качестве экспериментальных моделей культур клеточных линий иммунокомпетентных клеток. Клонирование и селекция лимфоцитов привели к получению однородных клеточных популяций, синтезирующих и/или секретирующих достаточно узкий набор биологически активных веществ. Такие клетки обладают уникальными для этой популяции эффекторными свойствами и имеют характерный набор антигенов на поверхностной мембране. Это позволило накапливать и анализировать молекулярнобиологическими и биохимическими методами макромолекулы этих клеточных линий: изучать организацию структурных генов, растворимые факторы межклеточного взаимодействия (лимфокины, монокины, интерферон и др.), определять структуру антигенов плазматической мембраны лимфоцитов.

Если культивирование трансформированных клеток животных проводится несколько десятилетий и является тривиальным, то выращивание линий нормальных (не

опухолевых) клеток стало возможным лишь последние 5—7 лет после открытия ростовых факторов, поддерживающих рост (размножение и дифференциацию) клеточных клонов [34]. Все больший интерес вызывает и все шире применяется в исследованиях новая биотехнология культивирования и использования клеточных линий, связанная с получением гибридом — линий гибридов между опухолевыми клетками и соматическими клетками-продуцентами биологически активных веществ. Получаемые при гибридизации гетерокарконы синтезируют соответствующее эффекторное вещество и обладают «бессмертием» опухолевых клеток. Такие клетки можно практически неограниченно культивировать *in vitro* и *in vivo* или хранить в замороженном виде. Сейчас во многих странах в банках клеточных линий и в лабораториях имеются тысячи линий гибридом, обладающих уникальными биологическими свойствами.

Одним из самых распространенных видов гибридом являются гибридомы В лимфоцитов животных, которые используются для получения так называемых моноклональных антител [13, 20].

В соответствии с клонально-селекционной теорией иммунитета, единичные плазматические клетки — потомки В лимфоцита могут, каждая, синтезировать и секретировать антитела лишь одной специфичности. Однако при иммунизации животных даже высокоочищенным антигеном обычно получают широкий набор специфичностей антител. Это связано с тем, что: 1) антигены, как правило, имеют несколько различающихся антигенных детерминант; 2) антитела даже одной специфичности, т. е. против одной антигенной детерминанты, отличаются друг от друга физико-химическими, антигенными свойствами, сродством к антигену, так как они образуются клонами-потомками разных клеток. Бывают случаи, когда какой-либо лимфоцит подвергается злокачественной трансформации и дает начало росту клона клеток, синтезирующих идентичные моноклональные антитела, которые гомогенны и моносpezifичны.

В эксперименте моноклональные антитела можно получить, гибридизируя антителообразующие клетки (например, лимфоциты селезенки после иммунизации животного) с миеломными клетками (трансформированными В лимфоцитами), образуя В гибридомы.

В этой статье невозможно достаточно полно осветить широкие возможности применения гибридом или подробно остановиться на свойствах синтезируемых гибридомными клетками продуктов. Поэтому будет приведена лишь схема получения гибридом В клеток и описаны некоторые подходы к использованию моноклональных и моносpezifических антител в иммунохимическом анализе.

Гибридизация лимфоцитов с миеломными клетками и селекция гибридом. В качестве источника миеломных клеток для гибридизации обычно используют мышинные клеточные линии, происходящие из миеломы МОРС-21, секретирующей IgG₁ молекулы с легкой цепью и перевиваемой на мышах линии BALB/C. Из этой миеломы были получены клоны нечувствительные к азагуанину (дефектные по ферменту гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазе) и несекретирующие иммуноглобулинов: P3-NS1-Ag4-1; x63—Ag—8.653 и Sp2/0—Ag—14. Эти линии чаще всего используются для гибридизации, так как они обладают следующими необходимыми свойствами: 1) хорошо гибридизируются и растут после гибридизации; 2) полностью погибают в среде НАТ, содержащей гипоксантин, аминоптерин и тимидин (аминоптерин блокирует биосинтез пуринов *de novo* в этих клетках, а гипоксантин и тимидин не могут использоваться для альтернативного пути биосинтеза, так как миеломные клетки этих линий не содержат ферментов тимидинкиназы и гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы); 3) не секретируют собственных иммуноглобулинов или их цепей (NS-1 может секретировать с цепи после гибридизации). К сожалению, пока отсутствуют миеломы других видов животных и человека, пригодные для получения В гибридом (кроме крысиной миеломы 210-RCY3—Ag1). Для гибридизации берут клетки миеломы в фазе экспоненциального роста.

Источником иммунных лимфоцитов могут быть мыши, крысы, кролики (гибриды клеток мышь — кролик растут плохо), животные других видов, а также человека. Однако чаще всего берут селезенку мышей BALB/C, так как это позволяет последующую трансплантацию образующихся гибридом сингенным животным. Если для иммунизации используют мышей других линий (например, А), то гибридомы перевивают соответствующим гибридам первого поколения (BALB/C×А)_{F1}. Для гибридизации желательно брать лимфоциты на 2—3 дня раньше пика антителообразования. В качестве

гибридирующего агента сейчас с молекулярным весом от 500 до

Для слияния клеток смешанного животного в соотношении раствор полиэтиленгликоля. Клеточной средой, а затем центрифугируют гибриды, используя этиленгликоля. Мы применяли токсичны для гибридных клеток значительному снижению часто

Точные механизмы гибридомы этиленгликоля происходит слияние гибридуемых клеток и образование идет лучше в активном, одно ядро с хромосомами из этих хромосом иногда уравнивании. Дальнейшая работа гибридных клеток.

При гибридизации образуются гибриды с лимфоцитами, гибриды и смесь исходных клеток. Мы смешиваем клетки, кодирующие бозилтрансферазы или в клетках с НАТ. Также погибают и в среде с НАТ через 8—10 дней необходимо выделить клоны

Гибридные клетки в свежую среду НАТ около 10% новую культуральную среду крайней мере дважды меняю

Для поиска специфичности культуральную среду, примеси гена и возможностей исследования клонов, то метод является и специфичным определений. Обычно для определения антигенов были клетки и метод. Принцип метода заключается, используемой для анализа неспецифической сорбции сителем (часто используют держат общих антигенов отмывания этого носителя домных культуральных сред на стенках посуды антигенный комплекс можно вымыть из клеток иммуноглобулинов в первом случае метод называется определяется по активности дофазным радиоиммунологическим считают в счетчике или с помощью из хрена, щелочную иногда применяют флуоресцентный А стафилококка, который А также должен содержать флуорохромную. Для поиска мембраны клеток вместо истинный тест [18], а также

гибридирующего агента сейчас почти исключительно пользуются полиэтиленгликолем с молекулярным весом от 500 до 4000.

Для слияния клеток смешивают миеломные клетки с лимфоцитами иммунизированного животного в соотношениях от 1:1 до 1:10 и добавляют при 37 °C 35—50 % раствор полиэтиленгликоля. Клетки перемешивают и через 1 мин разбавляют питательной средой, а затем центрифугируют 400 g 7 мин. Разные авторы по-разному проводят гибридизацию, используя различные концентрации и молекулярные массы полиэтиленгликоля. Мы применяли 50 % полиэтиленгликоль, так как большие концентрации токсичны для гибридных клеток, а уменьшение концентрации ниже 30 % приводит к значительному снижению частоты образования гибридов [13].

Точные механизмы гибридизации неизвестны. Очевидно, что под действием полиэтиленгликоля происходит слипание, а затем и слияние плазматических мембран гибридируемых клеток и образование одной, содержащей два или больше ядер. Этот процесс идет лучше в активированных клетках. После митоза гибридная клетка имеет одно ядро с хромосомами клеток, которые были выбраны для гибридизации. Часть из этих хромосом иногда утрачивается при гибридизации или последующем клонировании. Дальнейшая работа заключается в селекции и клонировании полученных гибридных клеток.

При гибридизации образуются клетки следующих типов: гибриды миеломных клеток с лимфоцитами, гибриды миеломы — миеломы, гибриды лимфоцит — лимфоцит и смесь исходных клеток. Миеломные клетки и гибриды, не содержащие генов нормальных клеток, кодирующих синтез тимидинкиназы или гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы или в которых нарушена экспрессия этих генов, погибают в среде с НАТ. Также погибают из-за ограниченного срока жизни лимфоциты. Поэтому в среде с НАТ через 8—10 дней остаются лишь гибриды миеломы — лимфоцит, из которых необходимо выделить клоны, синтезирующие антитела нужной активности.

Гибридные клетки в планшетах «подкармливают» каждую неделю, заменяя на свежую среду НАТ около половины среды в ячейке планшета. До перехода на обычную культуральную среду клеткам, секретирующим моноклональные антитела, по крайней мере дважды меняют среду НАТ.

Для поиска специфичности антител, секретируемых гибридными клетками в культуральную среду, применяют различные методы, выбор которых зависит от антигена и возможностей исследователя. Так как обычно надо анализировать большое количество клонов, то метод анализа должен быть достаточно простым, надежным (чувствительным и специфичным), быстрым и позволяющим одновременно проводить много определений. Обычно для растворимых антигенов, но иногда и для тех случаев, когда антигенами были клетки или субклеточные фракции, применяют иммуносорбционный метод. Принцип метода заключается в пассивной сорбции антигена на стенках посуды, используемой для анализа. Несвязавшийся антиген отмывают, а остающиеся места неспецифической сорбции на посуде «забивают» инкубацией с неспецифическим носителем (часто используют бычий сывороточный альбумин), который не должен содержать общих антигенных детерминант с антигеном и иммуноглобулинами. После отмывания этого носителя в пробы вносят стерильно отобранные супернатанты гибридных культуральных сред. Если таковые содержат антитела против сорбированного на стенках посуды антигена, то происходит связывание антител с антигеном. Образовавшийся комплекс можно выявить с помощью других антител, направленных против мышечных иммуноглобулинов и конъюгированных с ферментами или меченных ^{125}I . В первом случае метод называется ферментиммуносорбционным методом, и наличие антител определяется по активности соответствующего фермента [7], во втором — твердофазным радиоиммунологическим анализом, при котором каждую ячейку с антигеном считают в счетчике или делают автордиограмму. В качестве фермента, ковалентно связанного с антииммуноглобулиновыми антителами, чаще всего используют пероксидазу из хрена, щелочную фосфатазу и β -галактозидазу. Вместо фермента или изотопа иногда применяют флуорохромы, а вместо антииммуноглобулиновых антител — белок А стафилококка, который имеет сродство к Fc фрагменту IgG антител [9, 24]. Белок А также должен содержать метку — или ферментативную, или радиоактивную, или флуорохромную. Для поиска моноклональных антител против антигенов поверхностной мембраны клеток вместо иммуносорбционного метода часто используют микроцитотоксический тест [18], а также гемагглютинацию, бляшкообразование и др. методы.

Взаимодействие антитела с антигеном количественно описывается как: 1) $AG + \pm AT \xrightleftharpoons[k_2]{k_1} AG \cdot AT$; 2) $\frac{k_1}{k_2} = K$; 3) $[AG \cdot AT] = K \cdot [AG] \cdot [AT]$, где: k_1 и k_2 — константы скоростей соответственно прямой и обратной реакции, K — константа равновесия, определяющая сродство антитела к антигену, а $[AG]$, $[AT]$ и $[AG \cdot AT]$ — концентрации соответственно свободного антигена, свободного антитела и комплекса антиген — антитело.

В связи с этим концентрация комплекса антиген — антитело прямопропорциональна концентрации антител в растворе и сродству антител к антигену. Так как K моноклональных антител превышает K обычных антител на 4—5 порядков, то и количество моноклональных антител, используемых для анализа, может быть уменьшено в 10^4 — 10^5 раз по сравнению с количеством обычных антител.

Однако главное достоинство антител с высоким сродством заключается не столько в их «экономии» при проведении иммунохимического анализа, сколько в значительном увеличении чувствительности системы. Более того, количественное определение веществ, находящихся в растворе в концентрации 10^{-9} — 10^{-11} моль/л (именно такая концентрация многих белковых гормонов в сыворотке крови), вообще невозможно радиоиммунологически, если K антител ниже 10^8 — 10^9 л/моль [35, 38]. Обычно считают, что исследуемое вещество можно количественно определять, если его концентрация не ниже $1/K$.

К достоинствам моноклональных антител, помимо высокой специфичности, относится также то, что их можно получать против неочищенных антигенов, или таковых в микрограммовых количествах. В качестве недостатков или трудностей технологии получения моноклональных антител можно назвать необходимость клонирования гибридом, при котором используется большое количество высококачественных питательных сред и пластиковой посуды. Нужно помнить также о том, что моноклональные антитела часто не дают преципитации с соответствующими антигенами (это обычно бывает, когда антиген не содержит повторяющихся одинаковых антигенных детерминант), и порой лишь смешивание трех-четырех моноклональных антител различных специфичностей против антигенных детерминант того же антигена приводит к образованию преципитата.

Чаще всего моноклональные и моноспецифические антитела применяют в следующих случаях:

— для цитотоксического действия. С помощью моноклональных или моноспецифических антител можно в присутствии комплемента избирательно лизировать определенные субпопуляции клеток, иммунокомпетентных в том числе, которые экспрессируют на своей поверхности соответствующие антигены. Мы использовали моноклональные антитела против Thy 1,2 антигена мыши для лизиса Thy 1,2 положительных спленоцитов с целью обогащения популяции B клеток. Иногда лизис проводят не с помощью комплемента, а конъюгируя антитела с токсинами или радиоактивными изотопами. Так, в Вистаровском институте в США группой Х. Копровского были получены моноклональные антитела против поверхностных антигенов, характерных для определенного вида опухоли — против т. н. опухолеспецифичных антигенов, или антигенов, ассоциированных с опухолью. В случае меланомы это были белковые антигены [17, 22], а в случае колоректальной карциномы — гликолипиды (моносиалоганглиозиды) [15, 16]. Конъюгируя моноклональные антитела с A цепью дифтерийного токсина или A цепью токсина рицинуса, авторы получали *in vitro* гибель 100 % клеток, имевших на своей поверхности соответствующий опухолевый антиген. Клетки без антигена не повреждались [12]. Очевидно, что антитела служили проводником токсинов к специфической клетке-мишени и, связываясь с антигеном на клетке, способствовали проникновению в нее токсинов, которые ингибируют процессы трансляции мРНК, инактивируя фактор 2 элонгации (A цепь дифтерийного токсина) или инактивируя 60 S субъединицу рибосом (A цепь токсина рицинуса).

Возможно, что с усовершенствованием методов конъюгации антител с антигеном, с получением моноклональных антител против большой гаммы опухолевых антигенов, а также с использованием факторов, облегчающих проникновение комплекса антитело — токсин в клетку, этот подход в скором времени позволит разрушать различные опухолевые клетки не только *in vitro*, но и в организме;

— в медицине для диагностики и лечения болезней. Используя стандартные иммунохимические методы, с помощью моноклональных или моноспецифических антител

ных антител были найдены антитела, различающие нативную или денатурированную форму рецептора, блокирующие На канал или не влияющие на него, связывающиеся с определенными пептидами молекулы рецептора. Антитела позволили также найти и частично локализовать общее и различающиеся антигенные детерминанты на отдельных субъединицах (α , β , γ и δ) рецептора. В связи с тем, что образование моноклональных антител можно индуцировать неочищенными антигенами, полученные затем антитела можно крайне эффективно использовать для аффинной хроматографии и, в частности, для выделения отдельных антигенов из гетерогенной смеси. Уже сейчас этот метод является наилучшим для одноэтапного выделения интерферонов из культуральной среды при их образовании или клетками крови, или при синтезе в *E. Coli*, в которых клонируются гены интерферона [23]. Аналогично получают синтезируемые генно-инженерными методами инсулин, гормон роста или секретируемые культурами клеток лимфокины, интерлейкин 2, например.

Одной из самых важных областей применения моноклональных антител является иммуногенетика клеточной поверхности. Это связано с тем, что плазматическая мембрана лимфоцита представляет крайне сложный набор сотен отличающихся молекул, против которых обычными методами достаточно трудно получить антитела и еще труднее их разделить и проанализировать. При гибридизации же лимфоцитов селезенки животного, иммунизированного клеточными антигенами, как бы редко искомым антигеном был представлен на клеточной мембране, как правило всегда найдется гибридная клетка, синтезирующая антитела против этого антигена, что позволяет в последствии получить клон клеток-продуцентов соответствующих моноклональных антител. Так были получены моноклональные антитела против антигенов, характерных для различных субпопуляций лимфоцитов (или стадий дифференциации определенных субпопуляций), — Thy 1.1; Thy 1.2; Qa 4, Qa 5, T 1, Ly 1, Ly 2, Ly 3, ..., Ly 10, PC 1, PC 2 антигенов и многих других [14, 25, 27]. Особенно успешным было применение моноклональных антител при анализе полиморфизма продуктов генов главного комплекса антигенов тканевой совместимости — H-2 мыши и HLA человека [27, 36], которые выявили тонкие различия в структуре и организации этих антигенов, что было невозможно сделать традиционными серологическими методами.

Специальный интерес представляют моноклональные антиидиотипические антитела против антигенных детерминант, образованных активными центрами других антител. К. Раевский с соавторами [6, 32, 33], выделив гибридомы, секретирующие антиидиотипические моноклональные антитела против антител с активностью против NP (4-оксис-3-нитрофенилацетил-гаптена), показали, что введение животными антиидиотипа регулирует у них синтез идиотипических антител, а также продемонстрировали переключение экспрессии генов, кодирующих синтез разных константных участков тяжелых цепей иммуноглобулинов, при дифференциации гибридных клеток.

В связи с тем, что можно получить моноклональные антитела против «эффекторного» участка биологически активных веществ, которые будут конформационно комплементарны этому «эффекторному» участку, а также моноклональные антитела против активного центра первых антител, логично предположить, что активные центры вторых, т. е. антиидиотипических антител будут пространственно подобны или даже тождественны «эффекторному» участку антигена. Поэтому моноклональные антиидиотипические антитела во многих случаях будут связываться с рецепторами клеток-мишеней вместо эффекторных молекул. Учитывая возможность модификации молекул антител — получения F_v , F_{ab} , $F(ab)'_2$ фрагментов, присоединения к ним разных лигандов (токсина, лектина и др.), а также использования антител различных классов, обладающих отличающимися биологическими свойствами — переносом через плаценту, мембраны, фиксацией комплемента, можно представить возможность применения моноклональных антиидиотипических антител для модуляции фармакологического действия биологически активных веществ. Такие антиидиотипические антитела будут конкурировать с эффекторными молекулами за рецепторы и оказывать аналогичное или противоположное этим молекулам действие.

Несмотря на незначительный срок использования гибридной биотехнологии, трудно переоценить ее значение для иммунологии, и конечно же все расширяющийся объем применения гибридом и моноклональных антител служит гарантией новых открытий.

Список литературы

1. Комиссаренко С. В., Аврамеас С. Свойства иммуносорбентов, приготовленных путем связывания антигенов с активированным глутаровым альдегидом полиакриламидным гелем, BrCN-активированной агарозой и сополимеризацией антигенов глутаровым альдегидом.— Укр. биохим. журн., 1978, 50, № 4, с. 500—511.
2. (Комиссаренко С. В., Василенко С. В., Елякова Е. Г. и др.) Komisarenko S. V., Vasilenko S. V., Elyakova E. G., et al. Immunochemistry of apamin—bee venom neurotoxin. Radioimmunoassay with apamin and its derivatives.— Molec. Immunol., 1981, 18, N 6, p. 533—536.
3. Комиссаренко С. В., Скок М. В., Васильева Г. А. и др. Иммунохимический анализ цитохрома с лошади, стехиометрия взаимодействия и сродство цитохрома с к специфически F_{ab} фрагментам.— Докл. АН СССР, 1982, 264, № 3, с. 511—514.
4. Avrameas S., Ternynck T. The cross-linking of proteins with glutaraldehyde and its use for the preparation of immunosorbents.— Immunochimistry, 1969, N 6, p. 53—66.
5. Avrameas S., Ternynck T. Peroxidase-labelled antibody and Fab-conjugates with enhanced intracellular penetration.— Immunochimistry, 1971, N 8, p. 1175—1179.
6. Beureuther K., Bovens J., Dildrop R. et al. Isolation and characterization of class switch variants of myeloma and hybridoma cells.— In: Immunoglobulin idiotypes and their expression. New York: Acad. press, 1981, p. 131—137.
7. Butler J. E., Feldbush T. L., McGovern P. L., Stewart N. The enzyme-linked immunosorbent assay: a measure of antibody concentration or affinity?— Immunochimistry, 1978, N 15, p. 131—136.
8. Conti-Tronconi B., Tzartos S., Lindstrom J. Monoclonal antibodies as probes of acetylcholine receptor structure. 2: Binding to native receptor.— Biochemistry, 1981, 20, N 8, p. 2181—2191.
9. Dubois-Dalcq M., McFarland H., McFarlin D. Protein A-peroxidase: a valuable tool for the localization of antigens.— J. Histochem. Cytochem., 1977, N 25, p. 1201—1206.
10. Ey P. L., Prowse S. J., Jenkin C. R. Isolation of pure IgG₁, IgG_{2a} and IgG_{2b} immunoglobulins from serum using protein A-Sepharose.— Immunochimistry, 1978, N 15, p. 429—436.
11. Gee A. P., Langone J. J. Immunoassay using ¹²⁵I or enzyme-labelled protein A and antigen-coated tubes.— Anal. Biochem., 1981, 116, N 2, p. 524—531.
12. Gilliland D. G., Steplewski Z., Collier R. J. et al. Antibody-directed cytotoxic agents: use of monoclonal antibody to direct the action of toxin A chains to colorectal carcinoma cells.— Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1980, 77, N 8, p. 4539—4543.
13. Goding J. W. Antibody production by hybridomas.— J. Immunol. Methods, 1980, 39, N 4, p. 285—308.
14. Hadden J. W. Hybridoma antibodies.— Clin. Bull., 1980, 10, N 1, p. 26—29.
15. Herlyn M., Steplewski Z., Herlyn D., Koprowski H. Inhibition of growth of colorectal carcinoma in nude mice by monoclonal antibodies.— Cancer Res., 1980, 40, p. 717—721.
16. Herlyn D., Steplewski Z., Herlyn M., Koprowski H. Colorectal carcinoma-specific antigen: detection by means of monoclonal antibodies.— Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1979, 76, N 3, p. 1438—1442.
17. Herlyn M., Clark W. H., Mastrangelo M. J. et al. Specific immunoreactivity of hybridoma-secreted monoclonal anti-melanoma antibodies to cultured cells and freshly derived human cells.— Cancer Res., 1980, 40, p. 3602—3609.
18. Hudson L., Hay F. C. Practical Immunology.— Oxford: Blackwell, 1976.— 298 p.
19. Jerne N. K. Towards a network theory of the immune system.— Ann. immunol. (Inst. Pasteur), 1974, 125, p. 373—389.
20. Köhler G., Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predetermined specificity.— Nature, 1975, 256, p. 495—497.
21. Köhler G. Soft agar cloning of lymphoid tumour lines: detection of hybrid clones with anti-SRBC activity.— In: Immunological methods. New York: Acad. press, 1979, p. 397—401.
22. Koprowski H., Steplewski Z., Herlyn D., Herlyn M. Study of antibodies against human melanoma produced by somatic cell hybrids.— Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1978, 75, N 7, p. 3405—3409.
23. Krim M., Edy V. G., Stewart W. E. et al. Interferon.— In: Current chemotherapy and infectious disease. Proc. 11th ICC and 19th ICAAC Amer. Soc. Microbiol., 1980, p. 1417—1426.
24. Langone J. J., Boyle M. D. P., Borsos T. ¹²⁵I-protein A: applications to the quantitative determination of fluid phase and cell-bound IgG.— J. Immunol. Methods, 1977, 18, p. 281—293.
25. Ledbetter J. A., Herzenberg L. Xenogeneic monoclonal antibodies to mouse lymphoid differentiation antigens.— Immunological Rev., 1979, 47, p. 63—90.
26. Lefkowitz I. Limiting dilution analysis.— In: Immunological methods. New York: Acad. press, 1979, p. 355—370.
27. Lemke H., Hämmerling G. J., Hämmerling U. Fine specificity analysis with monoclonal antibodies of antigens controlled by the major histocompatibility complex and by the Qa/TL region in mice.— Immunological Rev., 1979, 47, p. 175—206.
28. Lindstrom J. Autoimmune response to acetylcholine receptor in myasthenia gravis and its animal model.— Adv. Immunology, 1979, 27, p. 1—50.
29. Locarnini S. A., Garland S. M. Immunosorbent assay for detection p. 277—282.
30. Massey R. J., Schochetman G. Blocking antibodies that inhibit p. 447—449.
31. Present W. A., King M. P., E antibodies to hepatitis B surface p. 929.
32. Reth M., Kelsoe G., Rajewski idiotopes antibodies.— Nature, p. 447—449.
33. Reth M., Bothwell A. L. M., site and of idiotopes in the expression. New York: p. 131—138.
34. Ruscetti F. W., Morgan D. L. Isolation of human T cells containing p. 131—138.
35. Thorell J. I., Larson S. M. The C. V. Mosby Co., 1978.
36. Trucco M. M., Garotta G., S against HLA structures.— In p. 131—138.
37. Tzartos S. J., Lindstrom J. M. structure: Localization of the p. 131—138.
38. Yalow R. S. Radioimmunoassay.

Институт биохимии им. А. В. Г.
АН УССР, Киев

УДК 612.173.1:612.017:616.12—092

Г. М. Бутенко,

Значительный прогресс и в пространению иммунологической науки и, в частности, в кардиологии ставляется использование ратеральной мышцы с использованием аппарата миокарда [24].

Еще более перспективными антител к специфическим зывается, таким образом, актилиз антигенных компонентов явиться существенным также тии сердечной патологии, по разные виды сердечной патологии миокардиальный фиброз [3, 31], идиопатические семейные В ряде исследований прослед одной стороны, и частотой о с другой [3, 16, 58, 59]. В антител к антигенам собственных осложнений, что широко обсуж

Антигенность ткани сердца наличием в ткани высокомолекулярным мышечным белкам, [11, 46]. К структурным белкам миозин (сходные с таковыми в состав саркоплазмы, относятся белки: миоглобин, глобулин Е

29. Locarnini S. A., Garland S. M., Ledman N. I. et al. Solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay for detection of hepatitis A virus.—J. Clin. Microbiol., 1978, 8, N 3, p. 277—282.
30. Massey R. J., Schochetman G. Viral epitopes and monoclonal antibodies: isolation of blocking antibodies that inhibit virus neutralization.—Science, 1981, 213, N 4506, p. 447—449.
31. Present W. A., King M. P., Bland A. F. et al. Characterization of murine hybridoma antibodies to hepatitis B surface antigenic determinant.—Feder. Proc., 1980, 39, N 3, patr. 2, p. 929.
32. Reth M., Kelsoe G., Rajewsky K. Idiotype regulation by isologous monoclonal anti-idiotypic antibodies.—Nature, 1981, 290, N 5803, p. 257—259.
33. Reth M., Bothwell A. L. M., Rajewsky K. Structural properties of the hapten binding site and of idiotopes in the NP antibody family.—In: Immunoglobulin idiotypes and their expression. New York: Acad. press, 1981, p. 138—145.
34. Ruscetti F. W., Morgan D. A., Gallo R. C. Functional and morphologic characterization of human T cells continuously grown *in vitro*.—J. Immunol., 1975, 119, N 1, p. 131—138.
35. Thorell J. I., Larson S. M. Radioimmunoassay and related techniques.—Saint Louis: The C. V. Mosby Co., 1978. 298 p.
36. Trucco M. M., Garotta G., Stocker J. W., Ceppellini R. Murine monoclonal antibodies against HLA structures.—Immunol. Rev., 1979, 47, p. 219—252.
37. Tzartos S. J., Lindstrom J. Monoclonal antibodies used to probe acetylcholine receptor structure: Localization of the main immunogenic region and determination of similarities between subunits.—Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1980, 77, N 2, p. 755—759.
38. Yalow R. S. Radioimmunoassay.—Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 1980, 9, p. 327—345.

Институт биохимии им. А. В. Палладина
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
5.IV 1982 г.

УДК 612.173.1:612.017:616.12—092

Г. М. Бутенко, А. А. Мойбенко, О. В. Шабловская

АНТИГЕНЫ СЕРДЦА

Значительный прогресс иммунологии в последние два десятилетия привел к распространению иммунологических подходов и методов в другие области медицинской науки и, в частности, в кардиологию. В настоящее время весьма перспективным представляется использование радиоиммунных методов для диагностики повреждений сердечной мышцы с использованием F_{ab}-фрагментов антител к миозину сократительно-го аппарата миокарда [24].

Еще более перспективным может быть получение и использование моноклональных антител к специфическим антигенам миокарда, детальное изучение которых оказывается, таким образом, актуальным направлением современных исследований. Анализ антигенных компонентов тканей сердца, «забарьерных» тканевых веществ, может явиться существенным также для понимания роли аутоиммунных процессов в развитии сердечной патологии, поскольку признаки аутоиммунности объединяют разнообразные виды сердечной патологии: поражения сердца при ревматизме [12, 42, 44], эндомикардиальный фиброз [34], инфаркт миокарда [7, 30], постинфарктный синдром [31], идиопатические семейные миокардиодистрофии [48], вирусные миокардиты [53]. В ряде исследований прослеживалась корреляция между тяжестью заболевания, с одной стороны, и частотой обнаружения и титрами антител к сердечным антигенам, с другой [3, 16, 58, 59]. В связи с этим реально предположение о патогенной роли антител к антигенам собственного сердца в развитии основного заболевания или его осложнений, что широко обсуждается в литературе [2, 8, 15].

Антигенность ткани сердечной мышцы показана экспериментально и обусловлена наличием в ткани высокомолекулярных белков и липидов. Белки ткани сердца, подобно всем мышечным белкам, подразделяются на структурные и саркоплазматические [11, 46]. К структурным белкам относятся миозин, актин, α-актин, тропонин, тропомиозин (сходные с таковыми скелетной мышцы). К неструктурным белкам, входящим в состав саркоплазмы, относятся растворимые в солевых средах низкой ионной силы белки: миоглобин, глобулин Вебера и гетерогенная белковая система миогена, облада-

юющая альдозазной, дегидрогеназной, триозофосфатазной и фосфорилазной активностью [11]. Основная масса белков сердца, общее содержание которых составляет 146,8 г/кг, приходится на долю миозина (55,1%), миогена (26,4%) и миоальбумина (12,2%) [23].

Антигенные свойства присущи как саркоплазматическим, так и миофибриллярным белкам сердечной мышцы [59]. Обладает также свойствами антигенов система кардиолипина, содержащаяся в миокарде [19].

Многочисленные данные свидетельствуют о значительной общности антигенов различных органов [10, 20, 35, 39]. В определенной мере эта общность обусловлена наличием групповых антигенов и антигенов гистосовместимости, но не ограничена ею.

Показано, что сердце содержит антигены, общие с почкой, печенью, селезенкой, скелетной мышцей и сывороткой крови [4, 5, 9, 32, 33, 36, 38, 39]. Частично общность антигенного состава различных органов может быть обусловлена наличием в них соединительнотканых структур, поскольку они, по всей вероятности, не имеют органной специфичности [13].

Наибольшим антигенным сходством с миокардом обладают скелетная мышца и почка. Антигенный состав сердца отличается от антигенного состава почки наличием двух специфических для миокарда антигенов [33]. Ткань скелетной мускулатуры содержит, по различным данным, от одного до четырех антигенов, общих с миокардом [4, 10, 32]. Один из этих общих антигенов у приматов расположен в саркомере, вставочных дисках мышечных волокон миокарда и во вставочных дисках волокон скелетной мускулатуры. Этот антиген иммунологически подобен также компоненту мембранных структур соединительной ткани почки и печени [22, 25].

Определенное антигенное сходство присуще экстракту сердечной мышцы и сывороточному альбумину крови. Ряд данных [10, 35] свидетельствует в пользу общности сывороточного альбумина с высокоподвижной электрофоретической фракцией экстракта сердечной мышцы, обозначенной в литературе как миоальбумин. Применение нами метода перекрестного иммуноэлектрофореза также свидетельствует об иммунологическом подобии антигенов миокарда сывороточному альбумину. Так, антитела против сывороточных антигенов крови собаки преципитировали белки миокарда в области высокоскоростной фракции, подвижность которой совпадает с подвижностью альбуминов сыворотки крови. Наблюдалось образование четырех пиков преципитации, что свидетельствует о наличии в сердечном экстракте иммунологически гетерогенной высокоскоростной электрофоретической фракции белков, сходных с сывороточным альбумином. При тестировании полученных от различных животных десяти противосывороточных преципитирующих сывороток результаты не выявили иммунологического подобия сердечных белков с фракциями глобулинов сыворотки крови.

Экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что антигены сердца, кроме видовой и индивидуальной специфичности, присущей всем тканям (и органам) животных и человека, обладают органной специфичностью, вследствие чего в организме возможна выработка антител к антигенам собственного миокарда. Органоспецифические, т. е. истинные сердечные антигены обнаружены у различных биологических видов (человека, обезьяны, кролика, крысы, мыши). Ограниченность этих антигенов сердечной тканью и отсутствие их не только в других органах, но и в скелетной мышце, сократительные ткани которой очень сходны с сердцем морфологически и биохимически, предполагает, что эти белки могут отражать функциональную специфичность сердца, как органа, например, автоматизацию его функции [40].

Получены сведения о том, что в состав ткани сердца человека входит, по данным различных авторов, от одного—двух до пяти органоспецифических сердечных антигенов [4, 32, 40]. Обнаружено, что сердечные аутоантитела кролика реагируют с аналогичными антигенами, имеющимися в экстракте сердца других млекопитающих (человек, крыса, морская свинка) [41].

Таким образом, следует полагать, что органоспецифические антигены сердца человека, сходные по иммунологическим и биохимическим свойствам с антигенами сердца кролика и других млекопитающих, являются видонеспецифичными [52, 52].

Сердечные антигены теряют свою активность под действием протенназ, что говорит об их белковой природе. Специфические антигены сердца не обнаруживают ферментативной активности (эстеразной, каталазной, глюкозаминидазной, глюкуронидазной, цистеин-аминопептидазной, фосфатазной и лактатдегидрогеназной), так как ни

один из этих ферментов не выявлен в экстракте сердца человека.

Сердечные антигены — вещества фурирования. Они частично очищаются, могут быть отделены друг от друга, часть из них теряет антигенные свойства.

Некоторые из специфических смесей. Оказалось, что один из них, в свою очередь, представляющий фракций [50]. Другой с весом между 20050—23500 не имеет электрофоретическую подвижность, проявляет сходные физико-химические свойства. В отличие от других сердечных антигенов.

Особыми свойствами характеризуются в солянокислом и высокой электрофоретической подвижности сыворотки крови [4] для сердца антигена [33]. Электрофоретическая подвижность соответствует второй — имеет молекулярный вес, сходный с таковой β -глобулинов.

Исследование нами методом кардиальных антител с электрофорезом (по Витебскому) дало сведения об особенностях реакции антиген-антитело. Образование от 4 до 17 пиков из которых 4—7 пиков инициации с подвижностью α - и β -глобулинов антикардиальной сыворотки остаются 3—4 пика сыворотки в области низкоскоростной фракции β -глобулинов сыворотки крови.

Следует обратить внимание на то, что кардиальных антител с электрофорезом использовались методики, которые применялись к некоторым субфракциям белков [9, 11, 3]. Также могут быть обнаружены структурными белками клеточными мембранами. Эффективным использованием методов получения иммуноглобулинов, сердечной клетки эмбриона и

Специальными исследованиями белков миокарда [4] тропомиозина, миозина, актина, малые количества одного — сократительных белков не было обогащение их аутоантигенами. Антигены представляют собой с этим получены данные о том, что один из основных сократительных белков миокарда имеет сродство к миозину сердца и сродство антимиозинных антител с радиоактивной меткой миокарда в эксперименте [49].

О внутриклеточном распределении антигенов, по экспериментальным данным, по

один из этих ферментов не выявляется в иммунопреципитатах антикардиальных антител и экстракта сердца человека [52].

Сердечные антигены — вещества, осаждающиеся при высоких скоростях центрифугирования. Они частично очищаются высаливанием с помощью сульфата аммония и могут быть отделены друг от друга при гель-хроматографическом анализе. Большая часть из них теряет антигенные свойства при температуре 85°C и pH 2 и 10 [41].

Некоторые из специфических антигенов миокарда удалось выделить из белковых смесей. Оказалось, что один из таких антигенов с молекулярным весом 68000 дальтон, в свою очередь, представляет гетерогенную систему и состоит из нескольких белковых фракций [50]. Другой из выделенных сердечных антигенов с молекулярным весом между 20050—23500 не обнаруживает при электрофорезе гетерогенности, имеет электрофоретическую подвижность между сывороточными α_1 - и β -глобулинами. Он проявляет сходные физико-химические свойства и в кислотном, и в щелочном экстрактах. В отличие от других сердечных антигенов, он относительно термостабилен [32].

Особыми свойствами характеризуется антиген, полученный из сарколеммы. Экстрагированный в солянокислом растворе, этот антиген отличался термостабильностью и высокой электрофоретической подвижностью, несколько превышающей подвижность альбумина сыворотки крови [4]. Было выделено и охарактеризовано два специфических для сердца антигена [33]. Молекулярный вес одного из них — 50000, электрофоретическая подвижность соответствует подвижности α_2 -глобулинов сыворотки крови. Второй — имеет молекулярный вес около 175000 и электрофоретическую подвижность, сходную с таковой β -глобулинов сыворотки крови.

Исследование нами методом перекрестного иммуноэлектрофореза реакций антикардиальных антител с электрофоретическим разделением солевого экстракта миокарда (по Витебскому) дало сведения о специфических антигенах миокарда. Отличительной особенностью реакции антикардиальных антител с сердечным экстрактом явилось образование от 4 до 17 пиков (при использовании различных сывороток), из которых 4—7 пиков иммунопреципитации локализовались в области фракции с подвижностью α - и β -глобулинов сыворотки крови. После предварительной адсорбции антикардиальной сыворотки печеночным порошком и сывороточными антигенами остаются 3—4 пика (в зависимости от используемой антикардиальной сыворотки) в области низкоскоростной фракции сердечного экстракта с подвижностью β -глобулинов сыворотки крови.

Следует обратить внимание на то, что для выделения описанных тканевых белков миокарда, обладающих органоспецифическими свойствами сердечных антигенов, использовались методики, которые предполагают выделение в основном белков саркоплазмы и некоторых субклеточных компонентов, а также легко растворимых миофибриллярных белков [9, 11, 32, 35—39, 45]. Поэтому не исключена возможность, что также могут быть обнаружены органоспецифические сердечные антигены, связанные со структурными белками клеточных органелл. По-видимому, в этом плане будет эффективным использование моноклональных антител, с помощью которых уже удалось получить иммуноглобулины, специфические по отношению к поверхностным антигенам сердечной клетки эмбриона цыпленка [28].

Специальными исследованиями определяли содержание аутоантигенов в сократительных белках миокарда [40]. Были получены тщательно очищенные фракции актина, тропомиозина, миозина, актомиозина и тропонина. Все они содержали относительно малые количества одного — трех аутоантигенов. Однако по мере очищения этих сократительных белков не было получено свидетельств того, что параллельно происходит обогащение их аутоантигенами. Поэтому существует предположение, что эти аутоантигены представляют собой примеси в препаратах сократительных белков [40]. Наряду с этим получены данные о том, что специфическими антигенными свойствами обладает один из основных сократительных белков миокарда — миозин. Моноспецифические антитела к очищенному миозину сердца собаки обладают в 300 раз более высоким сродством к миозину сердца, чем к миозину скелетной мышцы [24]. Специфичность и сродство антимиозиновых антител к антигену миокарда позволяет применять антитела с радиоактивной меткой для определения локализации и размеров инфаркта миокарда в эксперименте [49].

О внутриклеточном распределении сердечных антигенов можно судить по экспериментальным данным, полученным с помощью меченных флюоресцентном специфич-

ческих кардиальных антител. Так выявлено, что специфический сердечный антиген локализуется в сарколемме, в области субсарколеммы миоцита и внутри миофибрилл. Интенсивное окрашивание миофибрилл наблюдают в области вставочных дисков. Отмечается также свечение в виде поперечной исчерченности миофибрилл. Одновременно с этими видами свечения может существовать диффузно-саркоплазматический тип окрашивания. По предложенной классификации [54], диффузный тип окрашивания саркоплазмы характерен для фиксации специфических антикардиальных антител. Есть также мнение, что диффузное распределение флуоресцирующих антител может быть связано с перераспределением антигенного материала при воспалении и других видах поражения мышечных волокон [25, 41]. Указанные типы локализации характерны для антител к сердечной ткани, выделяемых из сыворотки крови пациентов после операций на сердце, с инфарктом миокарда, кардиомиопатией.

Высказывается мнение [54], что неспецифические антитела к ткани сердца фиксируются на эндомизме, обнаруживаются на интерстициальной ткани между миофибриллами, по ходу миофибрилл и видны при флуоресцентном окрашивании в виде прерывающихся линий.

Заслуживают внимания данные о сосредоточении специфической антигенной активности в митохондриях сердца [6]. Экспериментальные данные [55] свидетельствуют об аутоантигенной активности сердечных митохондрий. Показано, что воспроизведение инфаркта миокарда у собак сопровождается появлением аутоантител, реагирующих с белками митохондрий. Повреждение скелетной мышцы не приводит к выработке антител, способных реагировать с сердечными митохондриями. Наряду с этими данными появляются факты, не дающие однозначного ответа на вопрос о специфичности митохондриальных антигенных компонентов миокарда. В частности, показано, что эффекты антимитохондриальных сывороток и антиядерных сывороток на сердце однотипны, что может свидетельствовать о наличии в ядре и митохондриях общих антигенов [17].

В условиях сердечной патологии антигенные свойства миокарда могут изменяться. Есть данные о том, что антигенный состав ткани, взятой из некротического очага при инфаркте, отличается от состава антигенов интактного миокарда [43], дополнительная антигенность присуща миокарду, пораженному ревматизмом [21]. Высказывается мнение о том, что в условиях нарушения нервной трофики и метаболизма миокарда его белки могут стать аутоантигенными. «Роль первичного агента, образующего антигенный материал», — как обобщает А. Д. Адо, — выполняют различного рода травмы сердца: при инфаркте миокарда — гипоксия, при операциях — механическое повреждение ткани, при ревматизме — стрептококковая инфекция [1].

Можно предположить, что взаимодействия специфических и неспецифических противосердечных антител с соответствующими антигенами повлекут за собой различные нарушения функции сердца. Поскольку органоспецифические антигены сердца сосредоточены в области субсарколеммы, в сарколемме, в митохондриях и миофибриллах, воздействие специфическими антителами приведет, по-видимому, к нарушению ключевых звеньев функционирования миокарда. Понятно значение митохондрий для сердца, органа с высоким уровнем метаболизма. Сарколемма, в свою очередь, является не только структурой, обеспечивающей диффузию веществ в миоцит и наружу, но и определяет ионный обмен, лежащий в основе цикла сокращения — расслабления. Кроме того, плазматическая мембрана сарколеммы содержит, как полагают, различные ферментные системы, которые могут быть вовлечены в регуляцию ионной проницаемости и модуляцию сократимости миокарда [29]. Наконец, сарколемма, митохондрии и миофибриллы являются органеллами клетки, вовлеченными в регуляцию кальциевого обмена, являющегося необходимым звеном электромеханического сопряжения в сердечной мышце, а миофибриллы — звеном превращения внутриклеточной химической энергии в механическую работу сердца.

Нарушение процессов электромеханического сопряжения в миокарде при воздействии специфическими антикардиальными антителами подтверждается экспериментально [26]. Получены также сведения о том, что специфические антикардиальные антитела, фиксируясь на мышечных структурах миокарда, вызывают в эксперименте, прежде всего, патологические изменения сарколеммы и сократительных элементов миоцитов. Наблюдаемые при этом морфологические изменения сходны с возникающими в результате нарушения проницаемости сарколеммы и избыточного накопления ионов

кальция в саркоплазме [18]. Нарушение гетического обмена в сердечной активности миокарда и ведет к эксперименту, вовлечение в реакцию нарушает функциональную

Вместе с тем, до настоящего времени метаболизма миокарда и его функции миокарда. Остается неясным, в каких условиях, каковы причинные условия, каковы причины антител на структурах миокарда

Ответом на эти вопросы и характеристик кардиальных исследований.

1. Адо А. Д. Об антителах к сердцу. — Сессия, посвящая 10-летию.
2. Антощенко В. Т. Патология сердца. — М.: Наука, 1979. — 216 с.
3. Ахназарова В. Д., Казаков В. И. Поражения тканей при инфаркте миокарда. — Бюл. эксперим. патол., 1978, № 3, с. 59—65.
4. Бородин Н. А. Изучение антител к сердцу. — М.: Медицина, 1968, № 3, с. 32—33.
5. Бородин Н. А., Угрюмов В. И. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
6. Волынский А. С., Овчинников В. И. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
7. Гватва Н. А., Вайсман С. В. В кн.: Кардиология, 1973, 13, № 1.
8. Горев Н. Н., Бутенко Г. М. В кн.: Кардиология, 1973, 13, № 1.
9. Данилова Т. А., Бородин Н. А. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
10. Зборовский А. Б., Давыдов В. И. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
11. Иванов И. И., Юрьев В. В. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
12. Карпов Р. С. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
13. Марчук П. Д., Король С. В. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
14. Мойбенко А. А., Корчаков В. И. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
15. Мойбенко А. А., Бутенко Г. М. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
16. Мотовилов А. А. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
17. Пасечник А. В. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
18. Попович Л. Ф. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
19. Равич-Щербо М. И. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.
20. Сисенко В. И., Симонян В. В. В кн.: Современ. проблемы иммунологии. — М.: Медицина, 1971 г. — 156 с.

кальция в саркоплазме [18]. Наряду с этими изменениями происходит нарушение энергетического обмена в сердечной мышце, что сопряжено с уменьшением сократительной активности миокарда и ведет к повреждению сердца [14]. Следовательно, по данным эксперимента, вовлечение в реакцию антиген — антитело специфических антигенов может нарушать функциональную и структурную целостность миокарда.

Вместе с тем, до настоящего времени окончательно не выяснено, в каких звеньях метаболизма миокарда и его функции принимают участие органоспецифические антигены миокарда. Остается неясным, какие из антигенов миокарда иммуногенны в естественных условиях, каковы причины, условия и следствия фиксации кардиальных аутоантител на структурах миокарда в организме.

Ответом на эти вопросы будет дальнейшее изучение антигенов миокарда, свойств и характеристик кардиальных аутоантител в ходе экспериментальных и клинических исследований.

Список литературы

1. Адо А. Д. Об антителах против тканей сердца. — В кн.: Материалы докл. (Науч. сессия, посвящ. 10-летию Института ревматизма АМН СССР). М., 1968, с. 8—10.
2. Антоненко В. Т. Патологическая физиология иммунных повреждений сердца. — Киев: Наук. думка, 1979. — 232 с.
3. Ахназарова В. Д., Казакова И. С. К вопросу о роли фиксированных иммуноглобулинов при поражении тканей сердца у больных ревматизмом. — Вопр. ревматизма, 1978, № 3, с. 59—65.
4. Бородюк Н. А. Изучение антигенов миокарда и антител к ним в сыворотках кроликов, иммунизированных тканью сердца. — Вестн. АМН СССР, 1971, № 1, с. 47—50.
5. Бородюк Н. А., Угрюмова Г. А. Об изучении антигенов ткани сердца. — Вопр. ревматизма, 1968, № 3, с. 32—37.
6. Волинский А. С., Овчинников И. В. Антигенные свойства митохондрий сердца. — В кн.: Современ. проблемы биохимии дыхания и клиника: Материалы второй Всесоюз. конф. Иваново 1971 г. Иваново, 1972, т. 1, с. 134—135.
7. Гватуа Н. А., Вайсман С. Г. Иммунологические сдвиги при инфаркте миокарда. — Кардиология, 1973, 13, № 11, с. 140—148.
8. Горев Н. Н., Бутенко Г. М. Иммунные факторы в патологии сердца. — Патол. физиология и эксперим. терапия, 1979, № 3, с. 3—9.
9. Данилова Т. А., Бородюк Н. А., Угрюмова Г. А. Формирование антител к компонентам соединительной ткани при иммунизации животных гетерологичной тканью сердца. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1971, № 4, с. 71—74.
10. Зборовский А. Б., Давыдов А. А., Арсеньев С. А. Иммунохимическое изучение фракции с подвижностью альбумина, выделенных из сердечной и скелетной мышц. — В кн.: Проблемы аутоаллергии в практической медицине. Таллин, 1975, с. 98—99.
11. Иванов И. И., Юрьев В. А. Биохимия и патобиохимия мышц. — Л.: Медгиз, 1961. — 275 с.
12. Карпов Р. С. Циркулирующие кардиальные антитела у больных ревматическими пороками сердца и их значение в диагностике активности ревматического процесса. — Кардиология, 1974, № 9, с. 50—57.
13. Марчук П. Д., Король С. А., Мельниченко А. В. Реакция сердечно-сосудистой системы на введение антикоагуляновой сыворотки. — Геронтология и гериатрия, 1969. Сердце, сосуды, возраст. с. 92—114.
14. Мойбенко А. А., Коркач В. И., Сагач В. Ф. и др. Энергетический обмен и сократительная активность миокарда при кардиоцитотоксическом повреждении. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1980, 89, № 2, с. 151—153.
15. Мойбенко А. А., Бутенко Г. М. и др. Цитотоксические повреждения сердца и кардиогенный шок. — Киев: Наук. думка, 1977. — 140 с.
16. Мотовилов А. А. Титры антикардиальных антител как показатель выраженности миокарда при некоронарогенных изменениях сердечной ткани. — В кн.: Ишемическая болезнь сердца, некоронарогенные поражения миокарда: Актуал. пробл. кардиохирургии: 1-й съезд кардиологов УССР, 1978. Киев, 1978, с. 238—239.
17. Пасечник А. В. Некоторые морфофункциональные изменения миокарда при действии противосердечных цитотоксических сывороток. — Патол. физиология и эксперим. терапия, 1981, № 6, с. 70—72.
18. Попович Л. Ф. Характеристика морфо-функциональных изменений в миокарде и коронарных сосудах при локальном воздействии антикардиальных антител на сердце: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1980. — 25 с.
19. Равич-Шербо М. И. Химические и антигенные свойства липоидных антигенов, полученных из сердца различных животных и человека. Сообщ. XVI и XVII. — Сб. тр. Курского мед. ин-та, 1955, вып. 10, с. 224—226.
20. Сисенко В. И., Симонян Б. А., Аракелян Л. А. К анализу антигенного состава тканей сердца, почки, печени и селезенки человека посредством выделения «чистых» антител. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1971, № 2, с. 73—75.

21. Станкайтене Д. И., Томаскаускаене Г. И., Мотенюкайте Е. С. Серологические различия в спектре кардиальных аутоантител у больных ревматизмом и инфарктом миокарда.— Кардиология, 1972, 12, № 7, с. 33—36.
22. Угрюмова Г. А., Бородин Н. А. Изучение локализации антигенов миокарда методом иммунофлуоресценции.— Бюл. эксперим. биологии и медицины 1973, № 4, с. 70—73.
23. Фетисова Г. В., Фролькис Р. А. Биохимия инфаркта миокарда.— Киев: Здоров'я, 1976.— 166 с.
24. Хабер Э., Смит Т. В. Антитела. Диагностическое и терапевтическое использование в кардиологии.— В кн.: Метаболизм миокарда. М.: Медицина, 1977, с. 284—309.
25. Ченчикова Э. Л. Иммунологические аспекты нефрита Мазуки.— Патол. физиология и эксперим. терапия, 1977, № 1, с. 85—89.
26. Янций Р. И. Электрофизиологическое исследование действия антикардиальных антител на сердечную мышцу: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Киев, 1980.— 24 с.
27. Bauer H., Waters T. J., Talano J. V. Antimyocardial antibodies in patients with coronary heart disease.— Amer. Heart J., 1972, 83, N 5, p. 612—619.
28. Deutsch A., Fischman D. A. Monoclonal antibodies to cell surface antigens of embryonic chick heart cells.— Eur. J. Cell Biol., 1980, 22, N 1, p. 401.
29. Dhalla N. S., Ziegelhoffer A., Harrow J. A. C. Regulatory role of membrane systems in heart function.— Canad. J. Physiol., Pharmacol., 1977, 55, N 6, p. 1211—1235.
30. Dornbusch S. The value of the gel-precipitation method for the study of autoimmunological problems.— Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol., 1957, 2, N 3, p. 206.
31. Dressler W. The post-myocardial infarction syndrome.— Arch. Intern. Med., 1959, 103, N 1, p. 28—42.
32. Espinosa E., Kaplan H. Antigenic analysis of human heart tissue. Further characterization of an organ specific antigen of heart tissue.— J. Immunol., 1971, 106, N 3, p. 611—618.
33. Fukuta Sh., Yamamoto T., Kimura Y. et al. Analysis of the heart antibodies and analysis of the heart specific antigens.— Jap. Heart J., 1977, 18, N 5, p. 696—704.
34. Geld H. van der, Peetom F., F., Somers R., Kanyerezi B. Immunohistological and serological studies in endomyocardial fibrosis.— Lancet, 1966, 2, N 7436, p. 923—928.
35. Götz H., Scheiffarth F. Immunelectrophoretische Untersuchungen an organextrakten.— Klin. Wochenschr., 1963, 41, N 12, S. 587—589.
36. Gery J., Davies A. M. Organ specificity of the heart.— I. Animal immunization with heterologous heart.— J. Immunol., 1961, 87, N 4, p. 351—356.
37. Gery J., Davies A. M. Organ specificity of the heart. II. Immunization of rabbits with homologous heart.— J. Immunol., 1961, 87, N 4, p. 357—361.
38. Gupta R. K. Organ specificity of rat heart antigens.— Ind. J. Exp. Biol., 1978, 16, N 1, p. 103—105.
39. Hagert M., Trenckmann H., Kronbergen H., Schuppel K. Immunofluorescence microscopic and immunoelectrophoretic studies with an antiserum of goats against human myocardium.— Z. Gesamte Inn. Med., 1972, 27, N 1, S. 297—299.
40. Halbert S. P. The cardiac auto-immune system.— Int. Arch. Allergy and Appl. Immunol., 1971, 41, N 1, p. 117—121.
41. Halbert S. P., Holm S., Thompson A. The multiple nature of the cardiac auto-immune system and characterization of the antigens involved.— Fed. Proc., 1967, 27, N 2, p. 364.
42. Harter F. Rheumaserologie und Immunologie bei entzündlichen herzerkrankungen.— Diagnostica, 1975, 8, N 5, p. 185—186.
43. Itoh K., Ohkuni H., Kimura E., Kimura J. Immunoserological studies on myocardial infarction and postmyocardial infarction syndrome.— Jap. Heart J., 1969, 10, N 6, p. 485—502.
44. Kaplan M. H. Autoimmunity to heart and its relation to heart disease.— Progr. Allergy, 1969, 13, N 3, p. 408—429.
45. Kaplan M. H., Meyesian M. Immunologic studies of heart tissue. V. Antigens related to heart tissue, revealed by cross-reaction of rabbit antisera to heterologous heart.— J. Immunol., 1962, 88, N 4, p. 450—461.
46. Katagiri T. Gel electrophoretic analysis of structural proteins of the normal canine and human hearts.— Jap. Heart J., 1977, 18, N 5, p. 705—710.
47. Katagiri T. Changes of cardiac structural proteins in myocardial infarction.— Jap. Heart J., 1977, 18, N 5, p. 711—723.
48. Klajman A., Kamin-Belsky N., Feldman S., Kariv J. Immunologic studies in familial cardiomyopathy.— Amer. J. Cardiol., 1971, 28, N 6, p. 707—711.
49. Khaw B. A., Fallon J. T., Strauss H. W., Haber E. Myocardial infarct imaging of antibodies to canine cardiac myosin with indium-III-diethylenetriamine pentacetic acid.— Science, 1980, 209, N 4453, p. 295—297.
50. Kuch J. Autoantibodies directed against heart antigens and endocrine reactivity in patients with recent myocardial infarction.— Cardiovasc. Res., 1973, 7, N 5, p. 649—654.
51. Kuch J., Chorzelski T. Immunofluorescent studies in recent myocardial infarction.— Polish. Med. J., 1969, 8, N 4, p. 797—805.
52. Lin T. M., Halbert S. P., Kiefer D. The cardiac autoimmune system.— Int. Arch. Allergy, 1972, 42, N 1, p. 88—109. 43, N 2, p. 269—288.

53. Maisch B., Berg P. A., Kochs in patients with myocarditis.
54. Nicholson G. C., Dawkins R. anti-heart antibodies: differences.— Clin. Immunol. and Ir
55. Pinckard R. N., Olson M. S., 19S anti-heart mitochondria
56. Read S. E., Engle M. A., Zal heart-reactive antibodies.— New York, 1977, p. 201—206
57. Sladkova T., Stefan J., Bick svalu.— Cas. Cesk., 1979, 11
58. Sborovsky A. B., Davydov gegen die kontraktilen prot suppl. 5, S. 150—153.
59. Szabo L., Gazigian A., Lap ta.— Rev. Med. (RSS), 1976

Институт физиологии им. А. АН УССР, Киев

УДК 616—056.3—085

Э. В.

СОВРЕМЕННЫЕ КОРРЕКЦИИ

Одной из наиболее актуальных научных проблем является предупреждение и лечение аллергии.

Многочисленными экспериментами установлено, что в генезе аллергии играют роль нарушения гомеостатических процессов, контролируемых выражением иммунных реакций [13, 15, 19, 33].

На основе полученных данных выдвигаются новые подходы к лечению аллергических заболеваний. Условно они могут быть разделены на неспецифические.

Среди антигенспецифических методов, включающих десенсибилизацию [9, 10, 17, 29, 32], особое внимание уделяется синтетическим или модифицированным экстрактам, дающих десенсибилизирующий эффект, что способствует торможению его взаимодействия с некоторыми моновалентными антигенами, примированных животных, бычков, свободных гаптен-антигенных комплексов совместно с конъюгатами.

Получены данные, свидетельствующие о том, что примированных животных индукция иммунного ответа на антигены индуцируется [18, 34, 38].

Так, показано, что десенсибилизация стимулирует Т-клетки, что приводит к вторичному IgE ответу на антигены, введенным мышам, сенсибилизированным в раннем возрасте, уже начавшегося образования

53. Maisch B., Berg P. A., Kochsick K. Autoantibodies and serum inhibition factors (SIF) in patients with myocarditis.— *Klin. Wochenschr.*, 1980, 58, N 5, S. 219—225.
54. Nicholson G. C., Dawkins R. L., Mc Donald B. L., Wetherall I. D. A classification of anti-heart antibodies: differentiation between heart-specific and heterophile antibodies.— *Clin. Immunol. and Immunopathol.*, 1977, 7, N 2, p. 349—363.
55. Pinckard R. N., Olson M. S., O'Rourke R. A. et al. Development of complement fixing 19S anti-heart mitochondria autoantibody following myocardial infarction in dogs.— *Circul. Res.*, 1971, 29, N 3, p. 276—285.
56. Read S. E., Engle M. A., Zabriskie J. B. Humoral and cellular studies in diseases with heart-reactive antibodies.— In: *Myocardial Failure: Intern. Boehr. Mannheim Symp.* New York, 1977, p. 201—208.
57. Sladkova T., Stefan J., Bicova R. Srdeční protilatky v diagnostice zameru srdečního svalu.— *Cas. Cesk.*, 1979, 118, N 45, p. 1395—1398.
58. Sborovsky A. B., Davydov A. A., Arsenjev S. A., Bondarenko A. W. Autoantikörper gegen die kontraktilen proteine des myocards bei rheumatismus.— *Z. Rheumatol.*, 37, suppl. 5, S. 150—153.
59. Szabo L., Gazigian A., Lapohos E. A szivizom antigen tulajdons a gainak vires galata.— *Rev. Med. (RSS)*, 1976, 22, N 1, p. 8—11.

Институт физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
19.11 1982 г.

УДК 616—056.3—085

Э. В. Гюллинг, Л. А. Дюговская

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ПРОБЛЕМЕ КОРРЕКЦИИ ГИПЕР-Ig E АНТИТЕЛОГЕНЕЗА

Одной из наиболее актуальных задач медицины, решение которых имеет не только научное, но и важное прикладное народно-хозяйственное значение является предупреждение и лечение аллергии [11].

Многочисленными экспериментальными и клиническими исследованиями установлено, что в генезе аллергии немедленного типа существенную роль играет гиперпродукция IgE антител, являющаяся, в основном, следствием врожденного или приобретенного нарушения гомеостатического балланса между различными субпопуляциями Т-клеток, контролирующей выраженность и продолжительность IgE антительного ответа [13, 15, 19, 33].

На основе полученных данных в последние годы сформулированы и успешно развиваются новые подходы к коррекции повышенной чувствительности немедленного типа. Условно они могут быть подразделены на антигенспецифические и антигеннеспецифические.

Среди антигенспецифических способов, наряду с «классическим» способом гипосенсибилизации, включающим последовательное введение нарастающих доз антигенов [9, 10, 17, 29, 32], особое внимание уделяется коррекции IgE антителогенеза с помощью синтетических или модифицированных антигенов (либо их отдельных фракций), обладающих десенсибилизирующими и иммунодепрессивными свойствами. Установлено, в частности, что способностью связываться с Fab фрагментом IgE антител и таким образом тормозить его взаимодействие с соответствующим поливалентным антигеном обладают некоторые моновалентные антигенные фракции [28]. Показано, что лимфоциты мышей, примированных конъюгатом гаптен-носитель, после их обработки *in vitro* избытком свободного гаптена, не дают вторичного ответа при переносе облученным реципиентам совместно с конъюгатом гаптен-носитель [31].

Получены данные, свидетельствующие о том, что введение химически модифицированных антигенов индуцирует появление антигенспецифических клеток-супрессоров [18, 34, 38].

Так, показано, что денатурированный 8 М мочевиной овальбумин в такой степени стимулирует Т-клетки, что при повторном его введении мышам угнетается первичный и вторичный IgE ответ на нативный антиген. При этом перенос Т-клеток от таких животных мышам, сенсibilизированным нативным овабульмином, приводил к угнетению уже начавшегося образования IgE антител [35].

Выявлена возможность регуляции IgE антителигенеза путем интраназального введения модифицированного глутаральдегидом пылевого аллергена. Предполагается, что такая местная аппликация антигена на слизистую респираторного тракта индуцирует локальную пролиферацию клеток, синтезирующих антитела, и угнетает захват антигена в кровотоке [30].

Установлено, что специфическую иммунологическую толерантность можно индуцировать введением веществ, содержащих антигенные детерминанты, ковалентно связанные с неиммунным носителем, обладающим толерогенными характеристиками. В качестве носителя такого типа могут быть использованы полиэтиленгликоль [25], поливиниловый спирт [26], полимер Д-глутаминовой кислоты и Д-лизина [36], изологичный гамма-глобулин [14, 36] и другие. Белковые антигены, соединенные с подобными носителями, индуцируют высоко специфическую толерантность к белковым детерминантам. Эффект специфичен только в отношении антител класса Е.

Показано, что по механизму действия различные толерогенные носители отличаются между собой. Так, результаты опытов по адоптивному переносу различных комбинаций субпопуляций Т- и В-лимфоцитов иммунизированных животных, у которых в качестве толерогенного носителя был использован изологичный гамма-глобулин, позволяют заключить, что супрессия скорее связана с элиминацией гаптен специфических В_е клеток или их длительной инактивацией за счет блокады рецепторов, связывающих антиген, чем с появлением клеток-супрессоров [27].

В то же время конъюгаты гаптена с поливиниловым спиртом, подавляющие первичный и вторичный IgE антителный ответ на соответствующий гаптен, индуцируют генерацию антигенспецифических клеток-супрессоров [26].

Однако практическое применение антигенспецифических способов коррекции IgE антителигенеза весьма ограничено, поскольку в каждом случае необходимо выявить специфический антиген. Специфическая гипосенсибилизация мало эффективна у больных с полиаллергией, противопоказана при наличии острых инфекционных, воспалительных, аутоиммунных заболеваний, туберкулеза, обострения очаговых инфекций [1, 16].

В связи с этим большое внимание в настоящее время уделяется разработке способов коррекции повышенной продукции IgE антител, основанных на усилении антиген-неспецифической супрессии.

Работы в этом направлении успешно ведутся, и в опытах *in vitro* показана способность аллогенных мышинных или человеческих лимфоцитов синтезировать и секретировать факторы, тормозящие синтез IgE антител и не влияющие на IgG антителный ответ. Аналогичный фактор обнаружен в сыворотке крови низкоотвечающих мышей через неделю после введения полного стимулятора Фрейнда [21, 22]. Показано, что в незначительном количестве фактор присутствует в сыворотке крови нормальных мышей, в минимальных количествах он также обнаруживается в сыворотке мышей высокоотвечающих линий. Введение адьюванта не только значительно увеличивает содержание фактора в сыворотке, но и индуцирует появление фактора в асцитной жидкости. Изучение физико-химических и иммунологических свойств фактора показало, что он термостабилен, не является липопротеином, преципитируется сульфатом аммония, имеет молекулярный вес 150 000—200 000, не несет детерминант иммуноглобулина или детерминант главного комплекса гистосовместимости (Н-2 или Ia), но адсорбируется сывороткой против β_2 -микроглобулина. Предполагается, что действие фактора реализуется на уровне В-клеток, несущих М-детерминанты. В настоящее время продолжается изучение свойств обнаруженного фактора, механизмы его действия с целью использования фактора или веществ, стимулирующих его образование в клинической практике для лечения аллергических заболеваний.

В эксперименте предпринимаются попытки [24, 37] получения гибридом путем слияния очищенных на нейлоне Т-лимфоцитов мышей линии BALB/c, иммунизированных конъюгатами микобактерий с динитрофенолом, с клетками тимомы линии В 5147 (AKR, Н-2^к) с помощью полиэтиленгликоля. Поскольку супернатант культур таких гибридов полностью подавляет образование IgE антител, предполагается, что он инактивирует В_е-клетки. Установлено, что молекулярный вес активного фактора, содержащегося в супернатанте, составлял около 55 000 дальтон, супрессорная активность его адсорбируется анти Н-2, но не анти Н-2^к сывороткой [37].

Успешно исследуются возможности использования для лечения больных с гипер-IgE антителигенезом тимозина. Показано, что при парентеральном введении этого пре-

парата у больных с аллергическим заболеванием, уменьшение количества иммуноглобулина Е в сыворотке крови, что сопровождается значительным улучшением состояния.

В лаборатории патофизиологии активно ведутся исследования, посвященные новым способам физиологического использования низкомолекулярных соединений, индуцирующих образование рессоров.

С этой целью используются различные фракции [2]. Показано, что при парентеральном, так и при местном применении препарата индуцирует образование тимомы [3], что приводит к образованию IgM и IgG антител на образующие IgM и IgG антитела. При полинозе и инфекционных заболеваниях лечение людей с давней ферической крови которых значительное.

Изучено также влияние аналогов, синтезированных в лаборатории, при местном применении лево-0,05—0,1 % раствора препарата [4], а при использовании в носовые ходы 0,1 % раствора. При инфекционно-аллергическом заболевании со снижением уровня IgE кожной анафилактической реакции [23] усиливает супрессорную активность фибридных органов иммунизировавших антител.

Выявленные различия в активности фактора тимомы в клинике при лечении продукцией IgE.

Есть данные о том [1], что успешно применяется продукция IgE, а также лево-мембраны, что может быть связано с еще неизвестными об-нуклеотидами (цАМФ или цГМФ).

Значительный интерес представляет исследование иммунологических препаратов и факторов, которые показаны, что один из факторов усиливает фактор в культуральной среде молекулярным, ни супрессорным фактором становится в шестивещных (гликозилированных) форма — супрессор.

Исходя из выраженного действия лана попытка подавления фактора физическим воздействием фактор IgE антител на введение не удается при воздействии магнитного поля в терапевтической дозе.

Результаты проведенных исследований по коррекции IgE ан-

парата у больных с аллергическими заболеваниями нормализуется содержание Е-розеткообразующих клеток, уменьшается количество эозинофилов и уровень иммуноглобулина Е в сыворотке крови, усиливается супрессорная активность Т-клеток, что сочетается со значительным улучшением состояния больных [20].

В лаборатории патофизиологии Киевского института отоларингологии разрабатываются новые способы физиологически адекватной коррекции IgE антителигенеза с использованием низкомолекулярных тимических и синтетических иммуномодуляторов, индуцирующих образование в организме антигеннеспецифических клеток-супрессоров.

С этой целью используется лимфоцитостимулирующее вещество (ЛСВ) и его очищенные фракции [2]. Показано, что ЛСВ подавляет продукцию IgE антител, как при парентеральном, так и при местном его применении [3, 4, 6]. Эффект связан со способностью препарата индуцировать супрессорную активность в незрелых кортизончувствительных тимоцитах [3], что выявлено в опытах с переносом нормальных или обработанных *in vitro* неполипептидным диализабельным фактором тимуса тимоцитов сингенным реципиентам, продуцирующим IgE антитела. Установлено, что ЛСВ не влияет на образование IgM и IgG антител [7]. Препарат успешно применен при лечении больных поллинозом и инфекционно-аллергическим ринитом. Показано, что наиболее эффективно лечение людей с давностью заболевания до 10 лет, содержание Е-РОК в периферической крови которых значительно снижено [8].

Изучено также влияние синтетического иммуномодулятора левамизола и ряда его аналогов, синтезированных в Институте органической химии АН УССР. Показано, что при местном применении левамизола путем инстилляций в носовые ходы крыс по 0,05 мл 0,05–0,1 % раствора продукция IgE антител в органах дыхания значительно угнетается [4], а при использовании препарата в клинике путем ингаляций или закапывания в носовые ходы 0,1 % раствора левамизола у большинства больных поллинозом и инфекционно-аллергическим ринитом наступает клиническое улучшение, сочетающееся со снижением уровня IgE антител. С помощью реакции гетерологичной адоптивной кожной анафилаксии [23] установлено, что в отличие от ЛСВ, левамизол не индуцирует супрессорной активности в клетках тимуса, в то же время обработка клеток лимфоидных органов иммунизированных животных левамизолом подавляет выделение IgE антител.

Выявленные различия в механизмах действия левамизола и неполипептидного диализабельного фактора тимуса открывают новые возможности для их сочетанного применения в клинике при лечении аллергических заболеваний, обусловленных повышенной продукцией IgE.

Есть данные о том [12], что тимические гормоны, фактор переноса, который также успешно применяется при лечении аллергических заболеваний и супрессирует продукцию IgE, а также левамизол оказывают весьма сходное действие на клеточные мембраны, что может быть следствием общности их структуры или независимой стимуляции еще неизвестных общих путей метаболизма, включая, например, циклические нуклеотиды (цАМФ или цГМФ).

Значительный интерес для расшифровки механизмов действия различных фармакологических препаратов на образование IgE антител представляют эксперименты, в которых показано, что одни и те же клетки способны образовывать, как супрессорные, так и усиливающие факторы [39]. При этом, внутри клетки фактор имеет больший, чем в культуральной среде молекулярный вес, не содержит углеводов, не обладает ни усиливающим, ни супрессорным действием на IgE антителы. Биологически активным фактор становится в процессе гликозилирования одних и тех же молекул предшественников (гликозилированная форма обладает усиливающей, а негликозилированная форма — супрессорной активностью).

Исходя из выраженной тимусзависимости IgE антителигенеза в эксперименте сделана попытка подавления синтеза реактивов путем активации функции тимуса локальным воздействием физических факторов. В опытах на крысах установлено, что образование IgE антител на введенный в органы дыхания аллерген амброзии значительно угнетается при воздействии на комплекс грудина — тимус ультразвука и переменного магнитного поля в терапевтических дозах [5].

Результаты проведенных исследований открывают новые возможности неспецифической коррекции IgE антителиобразования с помощью физических факторов.

Появление и успешная разработка новых разносторонних патогенетически обоснованных подходов к коррекции гипер-IgE антителогенеза позволяет прогнозировать успешное решение в ближайшее время многих вопросов профилактики и лечения аллергии немедленного типа, обусловленной IgE антителами.

Список литературы

1. Адо А. Д. Общая аллергология. М.: Медицина, 1978.— 463 с.
2. Безверщенко І. А., Бойко М. Г., Лукашова Д. Г., Малижєв В. О. Фізико-хімічні властивості лімфоцитотропного чинника тимуса.— Укр. біохім. журн., 1974, 3, № 46, с. 358—363.
3. Безверщенко И. А., Дюговская Л. А. О механизме угнетения продукции IgE-антител неопептидным фактором тимуса.— Докл. АН УССР. Сер. Б, 1978, № 3, с. 267—270.
4. Гюллинг Э. В., Дюговская Л. А. Угнетение синтеза реагинов в органах дыхания при местном применении некоторых лимфоцитотропных веществ.— Докл. АН УССР. Сер. Б, 1980, № 10, с. 72—73.
5. Гюллинг Э. В., Диеспєрова А. А. Подавление синтеза реагинов при локальном воздействии физических факторов на комплекс груднотимус.— Докл. АН УССР. Сер. Б, 1982, № 5, с.
6. Дюговская Л. А. Образование реагинов в условиях нормы при хроническом тонзиллите: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киев, 1975.— 24 с.
7. Дюговская Л. А., Тимченко С. В. Экспериментальное изучение влияния диализабельного фактора тимуса на образование антител.— В кн.: Респ. конф. молодых ученых-медиков. Львов, 1979, с. 118.
8. Заболотный Д. И. Клинико-экспериментальное обоснование применения низкомолекулярного препарата тимуса ЛСВ для лечения больных аллергическими ринитами: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киев, 1978.— 24 с.
9. Мошкевич В. С. Специфическая гипосенсибилизация при аллергических заболеваниях.— В кн.: Иммуноterapia при аллергии к микробам. Алма-Ата, 1980, с. 179—232.
10. Польнер А. А. Иммунологические механизмы специфической гипосенсибилизации.— В кн.: Аллергические заболевания у детей. Саратов, 1978, с. 6—7.
11. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Манько В. М., Михайлова А. А. Контроль и регуляция иммунного ответа.— Л.: Медицина, 1981.— 311 с.
12. Bach J. F., Edelman L. On significance of the similarity of the immunological effects of transfer factor, levamisole and thymic hormones.— In: Thymus, Thymic Hormones and T Lymphocytes. London etc., 1980, p. 187—193.
13. Canonica G. W., Mingari M. Cr. Melioli G., Colombatti M. Inbalance of T cell subpopulation in patients with atopic diseases and effect of specific immunotherapy.— J. Immunol., 1979, 123, N 6, p. 2669—2672.
14. Fillion L. G., Lee W. Y., Sehon A. H. Suppression of the IgE antibody response to ovalbumin in mice with a conjugate of ovalbumin and isologous γ -globulins.— Cell. Immunol., 1980, 54, N 1, p. 115—128.
15. Fineman S. M., Rosen F. S., Geha R. S. Transient hypogammaglobulinemia, elevated immunoglobulin E levels and food allergy.— J. Allergy, 1979, 64, N 3, p. 216—222.
16. Fuch E. Indikationen und Kontraindikationen der Desensibilisierungsbehandlung (einschließlich gewerblicher allergosen).— Atemwegs und Lungenkrankh., 1978, 4, N 1, p. 15—18.
17. Freeman J. Further observation on the treatment of hay fever by hypodermic inoculation of pollen vaccine.— Lancet, 1911, N 2, p. 814—819.
18. Gallino N. E. Possible application of hyposensitization treatment with modified antigen in immediate-type allergy.— In: Allergy and Clinical Immunology. Amsterdam; Oxford, 1977, p. 502—504.
19. Geha R. S. Suppressor T cells in human allergic disease.— J. Allergy and Clin. Immunol., 1979, 64, N 6, p. 477—478.
20. Hobbs J. Byron N. A., Cambell M. A. Thymosin-inducible lymphocytes in atopy.— In: Thymus, Thymic Hormones and T Lymphocytes. London etc., 1980, p. 143—153.
21. Katz D. H. New concepts concerning the clinical control of IgE synthesis.— Clin. Allergy, 1979, 9, N 6, p. 609—624.
22. Katz D. H. Recent studies on the regulation of IgE antibody synthesis in experimental animal and man.— Immunology, 1980, 41, N 1, p. 1—24.
23. Kind L. S., Macedo-Sobrinho B. Heterologous adoptive cutaneous anaphylaxis: A method for detecting reaginic antibody formation by cells in the mouse.— J. Immunol., 1973, 111, N 2, p. 638—640.
24. Kishimoto T., Watanabe T., Yamamura Y. IgE class-specific suppressor T cells and establishment of their hybrid cell line.— In: New Approaches to the Management of Allergic Diseases. Basel etc.: Karger, 1979, p. 78—80.
25. Lee W. Y., Sehon A. H. Suppression of reaginic antibody formation. IV. Suppression of reaginic antibodies to penicillin in the mouse.— J. Immunol., 1976, 117, N 3, p. 927—934.
26. Lee W. Y., Sehon A. H. The suppression of anti-hapten Ig p. 31—37.
27. Lee W. Y., Specific suppression ches to the Management of
28. Muckerheide A., Pesce A. J., A BSA by fragments of the anti conjugated to homologous γ -
29. Noon L. Prophylactic inocula 1579.
30. Schumacher M., Mitchell G. I immunotherapy with modifier N 6, p. 30—34.
31. Sehon A. H. Suppression of r gy, 1975, 5, N 4, p. 461—462.
32. Sobotka A. K., Valentine M. blocking antibodies: Developi nol., 1976, 117, N 1, p. 84—91
33. Strannegard Ö., Strannegard normal subjects and atopic.—
34. Tada T. Inhibition of reagin allergic diseases.— Asian. Mi
35. Takatsu K., Ishizaka K. Rea IgE and IgG antibody resp dose urea-denaturated anti
36. Tse K. S., Kepron W., Seho adn suppression of hapten- the Management of Allergic
37. Watanabe T., Kimoto M., I specific suppressor factor s Proc., 1980, 12, N 3, p. 432-
38. Wegner F., Fenkes A., Sten ment with L-tyrosine-absor basophils of children suffer N 1/2, p. 111—113.
39. Yodoi J., Hirashima M., Hi VII. Possible participation factor.— J. Immunol., 1981,

Киевский институт
оториноларингологии

26. Lee W. Y., Sehon A. H. The use of polyvinyl alcohols as tolerogenic carriers for suppression of anti-hapten IgE antibody responses.—*Immunol. Lett.*, 1979, 1, N 1, p. 31—37.
27. Lee W. Y., Specific suppression of the reaginic antibody response.—In: *New Approaches to the Management of Allergic Diseases*. Basel etc.: Karger, 1979, p. 86—91.
28. Muckerheide A., Pesce A. J., Michael J. G. Modulation of the IgE immune response to BSA by fragments of the antigen. I. Suppression by free fragments and by fragments conjugated to homologous γ -globulin.—*Cell. Immunol.*, 1981, 59, N 2, p. 392—398.
29. Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever.—*Lancet*, 1911, N 1, p. 1572—1579.
30. Schumacher M., Mitchell G. Inhibition of muine reaginic antibody responses by nasal immunotherapy with modified allergen.—*J. Allergy and Clin. Immunol.*, 1981, 67, N 6, p. 30—34.
31. Sehon A. H. Suppression of reaginic antibodies in experimental animals.—*Clin. Allergy*, 1975, 5, N 4, p. 461—462.
32. Sobotka A. K., Valentine M. D., Ishizaka K., Lichtenstein L. M. Measurement of IgG-blocking antibodies: Development and application of a radioimmunoassay.—*J. Immunol.*, 1976, 117, N 1, p. 84—90.
33. Strannegard O., Strannegard I.-L. *In vitro* differences between the lymphocytes of normal subjects and atopic.—*Clin. Allergy*, 1979, 9, N 6, p. 645—658.
34. Tada T. Inhibition of reaginic formation. The possibility of immunologic therapy for allergic diseases.—*Asian. Med. J.*, 1977, 20, N 7, p. 397—406.
35. Takatsu K., Ishizaka K. Reaginic antibody formation in the mouse. VI. Suppression of IgE and IgG antibody responses to ovalbumin following the administration of high dose urea-denaturated antigen.—*Cell. Immunol.*, 1975, 20, N 2, p. 276—289.
36. Tse K. S., Kepron W., Sehon A. H. A canine model for the study of allergic asthma and suppression of hapten-specific IgE antibody response.—In: *New Approaches to the Management of Allergic Diseases*. Basel etc.: Karger, 1979, p. 38—44.
37. Watanabe T., Kimoto M., Nakanishi K. et al. The characterization of an IgE-class-specific suppressor factor secreted by a suppressor T cell hybridoma.—*Transplant. Proc.*, 1980, 12, N 3, p. 432—435.
38. Wegner F., Fenkes A., Stenmann E. A., Reinhardt D. Influence of preseasonal treatment with L-tyrosine-absorbed allergoids on IgE-mediated histamine release from basophils of children suffering from allergic diseases.—*Agents and action*, 1981, 11, N 1/2, p. 111—113.
39. Yodoi J., Hirashima M., Hirata F. et al. Lymphocytes bearing Fc γ receptors for IgE. VII. Possible participation of phospholipase A₂ in the glycosylation on IgE-binding factor.—*J. Immunol.*, 1981, 127, N 2, p. 476—482.

Киевский институт
отоларингологии

Поступила в редакцию
15.III 1982 г.

УДК 612.43+612.411:616—003.725:612.017.12

В. Ф. Чеботарев, Н. И. Ермакова, А. В. Антоненко, Т. К. Валуева

К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ ТИМУСА И СЕЛЕЗЕНКИ НА ПЕРВИЧНЫЙ И ВТОРИЧНЫЙ ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

Изучение средств, обеспечивающих направленные изменения иммунологических процессов необходимо для успешного проведения экспериментальных исследований и обеспечения потребностей клиники. Данные литературы и проведенных нами ранее опытов показали перспективность применения препарата тимуса — тимозина [3, 8]. Обнаружено изменение антителообразования после введения препарата селезенки — спленина [4].

Для более полного определения возможностей использования тимозина и спленина, повышения его эффективности необходимо изучение путей влияния этих препаратов на организм. Их действие может быть направлено на изменение активности различных видов клеток, регулирующих иммуногенез. В последние годы убедительно показано, что иммунный ответ в значительной степени определяется активностью Т-лимфоцитов, обладающих супрессорной функцией [2,5]. Обнаружены принципиальные отличия между супрессорами, регулирующими первичные и вторичные иммунологические реакции [10].

Мы исследовали влияние тимозина и спленина на количество антителообразующих клеток (АОК) после первичного и вторичного воздействия тимусзависимого антигена, а также на активность клеток-супрессоров после вторичной иммунизации у неоперированных и адреналэктомированных животных.

Методика исследований

Опыты проведены на 160 самцах мышей СВА массой 19—20 г. В качестве антигена использовали эритроциты барана (ЭБ). Известно, что в результате подбора доз и интервала между двумя антигенными инъекциями могут быть созданы условия для преимущественной активации индуцированных антигеном Т-клеток-супрессоров, действие которых наиболее эффективно проявляется на высоте антителообразования. Функциональная активность таких клеток-супрессоров измеряется величиной снижения вторичного иммунного ответа по сравнению с первичным [11]. Специфическим показателем ответа мышей СВА на ЭБ служило относительное содержание АОК в селезенке на 4 сут после первичного и вторичного введения ЭБ. Предварительными исследованиями было установлено, что оптимальными условиями для активации супрессоров в условиях нашего опыта является двукратное введение $5 \cdot 10^8$ ЭБ с интервалом 2 сут. Количество АОК определяли прямым микрометодом локального гемолиза в жидкой среде [6].

Использовали тимозин третьей фракции [7], а также официальный препарат спленина [1]. Тимозин вводили двукратно с интервалом 24 ч в суточной дозе 8 мг. Спленин — по такой же схеме в суточной дозе 0,25 мл. Инъекции производили перед первичным введением антигена.

Результаты исследований и их обсуждение

Данные приведенные в таблице показывают, что после введения тимозина достоверно (более чем в 5 раз) увеличивается первичный и вторичный иммунный ответ. Супрессорный эффект примирования существенно не изменяется по сравнению с контрольной группой. Это позволяет считать, что у животных с интактными надпочечниками стимулирующее действие тимозина не обусловлено изменением активности супрессорных клеток, действующих на уровне зрелых антителопродуцентов.

Под влиянием спленина первичный ответ также возрастает (более чем в 7 раз, $p < 0,01$). В отличие от тимозина стимулирующий эффект спленина сочетается с уве-

личением супрессии вторичного ответа действия спленина, по крайнем активностью примированных су

Одной из причин отсутствия супрессоров АОК после введения взрослых мышей к препарату [9]. Исследования проведенных на фоне снижения уровня гл компетентных Т-лимфоцитов к тиз

Количество АОК (на 10^6 кардиоц

Введенный препарат	Характеристика иммунного ответа
Тимозин	Первичный ответ контроль
	Первичный ответ + препарат
	Вторичный ответ (контроль)
	Вторичный ответ + препарат
Спленин	Первичный ответ (контроль)
	Первичный ответ + препарат
	Вторичный ответ
	Вторичный ответ + препарат

Результаты, приведенные снижают содержание АОК. Эффект операции не обусловлен вторичным введением антигена, снижается (с 37 до 4 %, $p < 0,01$) влияние на эффекторные

Введение тимозина адри первичный и вторичный иммунный ответ последний обнаруживает тенденцию вторичного ответа в да примированных супрессоров

Эффект спленина у животных, существенно не

Таким образом, после иммунизации избирательно повышается активность супрессоров, проявляющих свойство вторичного антигенного возде

личением супрессии вторичного ответа на 25,5 %. Это позволяет считать, что результат действия спленина, по крайней мере частично, может быть обусловлен повышением активности примированных супрессоров на высоте антителиобразования.

Одной из причин отсутствия достоверных изменений активности примированных супрессоров АОК после введения тимозина может быть физиологическая резистентность взрослых мышей к препаратам тимуса, которая обнаруживается также и у человека [9]. Исследования проведенные нами ранее показали, что удаление надпочечников на фоне снижения уровня глюкокортикоидов, повышает чувствительность иммунокомпетентных Т-лимфоцитов к тимозину [3].

Количество АОК (на 10^6 кариоцитов) селезенки при введении тимозина и спленина после удаления надпочечников

Введенный препарат	Характеристика иммунного ответа	Интактные надпочечники		Адреналэктомия	
		АОК	Интенсивность супрессии (процент)	АОК	Интенсивность супрессии (процент)
Тимозин	Первичный ответ контроль	3820±796 (8)		397±46 (11)	
	Первичный ответ + препарат	19400±2020 (12) $p<0,05$		774±71 (7) $p<0,05$	
	Вторичный ответ (контроль)	2400±326 (7)	37,1±3,6	381±52 (16)	4,0±0,4
	Вторичный ответ + препарат	12346±2760 (12) $p<0,05$	35,6±3,8 $p>0,05$	357±89 (6) $p>0,05$	53,8±5,4 $p<0,05$
Спленин	Первичный ответ (контроль)	807±262 (7)		79±7,3 (10)	
	Первичный ответ + препарат	5730±360 (5) $p<0,05$		275±23 (9) $p<0,05$	
	Вторичный ответ	488±54 (7)	39,5±4,1	71±6,8 (14)	10,0±1,2
	Вторичный ответ + препарат	2001±236 (5) $p<0,05$	65,0±5,4 $p<0,05$	195±27 (11) $p<0,05$	30,5±2,9 $p<0,05$

Результаты, приведенные в таблице, показывают, что адреналэктомия постоянно снижает содержание АОК, более значительно угнетая первичный иммунный ответ. Эффект операции не обусловлен повышением активности супрессоров, стимулированных вторичным введением антигена, поскольку характеризующий их показатель резко снижается (с 37 до 4 %, $p<0,05$). Возможно удаление надпочечников оказывает прямое влияние на эффекторные В-лимфоциты.

Введение тимозина адреналэктомированным животным по-разному действует на первичный и вторичный иммунный ответ. Первый возрастает в 2 раза ($p<0,05$), а последний обнаруживает тенденцию к дополнительному снижению. Причиной уменьшения вторичного ответа в данном случае является достоверное возрастание активности примированных супрессоров более чем на 49 %.

Эффект спленина у животных, лишенных надпочечников, по сравнению с неоперированными, существенно не изменяется.

Таким образом, после адреналэктомии при использованных нами условиях иммунизации избирательно повышается чувствительность к тимозину примированных супрессоров, проявляющих свою активность на высоте развития иммунного ответа после вторичного антигенного воздействия.

Выводы

1. У нормальных мышей тимозин и спленин оказывают стимулирующее воздействие на АОК, появляющиеся после первичной иммунизации. Функция клеток-супрессоров, активирующихся при повторном введении антигена, под влиянием тимозина не изменяется, а спленин — повышается.
2. Влияние тимозина на вторичный иммунный ответ зависит от функции надпочечников. У адреналэктомированных мышей повышается чувствительность к тимозину клеток-супрессоров, регулирующих ответ на повторное антигенное воздействие.

Список литературы

1. Комиссаренко В. П. Спленин. (Его физиологические и лечебные свойства). — Киев: Медгиз УССР, 1961. — 142 с.
2. Писарев В. М., Волгин А. Ю. О супрессорной активности клеток селезенки при лекарственно индуцированной иммунологической толерантности. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1978, 96, № 11, с. 558—560.
3. Чеботарев В. Ф. Эндокринная регуляция иммуногенеза. — Киев: Здоров'я, 1979. — 159 с.
4. Шевченко А. В. Спленин — биологически активный фактор селезенки. — В кн.: Новое о гормонах и механизме их действия. Киев: Наук. думка, 1977, с. 350—360.
5. Bach J. F., Dardenne M. Antigen recognition by T-lymphocytes. — Cell. Immunol., 1973, 6, N 3, p. 394—402.
6. Cunningham A. L., Smith J. B., Mercer E. H. Antibody formation by single cells from lymph nodes and efferent lymph of sheep. — J. Exp. Med., 1966, 124, N 4, p. 701—708.
7. Goldstein A. L., Guha A., Zatz M. M. et al. Purification and biological activity of thymosin, a hormone of the thymus gland. — Proc. Nat. Acad. Sci., 1972, 69, N 7, p. 1800—1803.
8. Goldstein A. L., Marshall G. D., Rossio J. L. Thymosin therapy: approach to immunoreconstitution in immunodeficiency disease and cancer. — In: Immunother. Human Cancer. New York: Raven Press, 1978, p. 173—179.
9. Globerson A., Umiel T., Friedman D. Activation of immune competence by thymus factors. — Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975, 249, p. 248—258.
10. Inaba K., Nakano K., Muramatsu S. Regulatory function of T lymphocytes in the immune response. I. Two categories of suppressor T cells. — Cell. Immunol., 1978, 39, N 2, p. 260—275.
11. Tada T., Taniguchi M., Takemori T. Properties of primeal suppressor T-cells and their products. — Transplant. Rev., 1975, 26, N 2, p. 106—129.

Лаборатория эндокринной регуляции иммуногенеза
Киевского института эндокринологии и обмена веществ МЗ УССР

Поступила в редакцию
18.I 1982 г.

УДК 616—056.3.001.6:616.24:576.8.097.33

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

ГИПОСЕНСИБИЛИЗАЦИЯ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ЛЕГКИХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Распространенным способом снижения повышенной реактивности организма является десенсибилизация специфическим антигеном. В клиническую практику этот метод вошел под названием гипосенсибилизации. Его применение оказалось наиболее успешным при терапии atopических заболеваний с использованием пылевых аллергенов [1]. Применение указанного метода для лечения аллергических заболеваний инфекционной этиологии оказалось значительно менее результативным [5, 14], поскольку к настоящему времени нет четких представлений о механизмах, обеспечивающих его эффективность. Значительные возможности в этом плане может представить изучение механизмов десенсибилизации на моделях, воспроизводящих аллергическое поражение легких при воздействии бактериальными антигенами. К сожалению, имеющиеся в литературе сообщения единичны и не содержат информации по комплексному изучению иммунологических процессов с учетом локального иммунного ответа.

Мет

Мы изучали иммунологические модели аллергического бронхита и гиперчувствительных реакций замедленного типа в эксперименте на морских свинках. В исследовании использовались суточные убитые культуры на 60 морских свинок массой 150 г (контроль) — 20 интактных морских свинок, гипосенсибилизированных в результате ингаляционной гипосенсибилизации; III группа — 20 интактных морских свинок, гипосенсибилизированных в результате ингаляционной гипосенсибилизации. Гипосенсибилизацию достигало внутрисердечно вводимый антиген (в 1 мл взвеси содержался 10⁸ бактерий антигена) в филококкового антигена (концентрация в III группе после гипосенсибилизации) — 30 %; гибель всех групп изучали выражением ответа и степень сенсibilизации: определяли — число Е [1] в 1 мл крови (процент и абсолютное количество стафилококковым антигеном; интоксикация [6, 8]; внутрикожные пробы через 1—2, 24 и 48 ч. Полученные

Рез

Проведенные исследования в гуморального типа в результате этих опытов представляли вызвала значительные сенсibilизации как по результатам бронхо-альвеолярных клеток снижение интенсивности кожной реакции торможения. Постановка реакции торможения задала, что индекс миграции во время гипосенсибилизации составил 0,87 у гипосенсибилизированных животных. Титра агглютининов, уровень сравнения с периодом сенсibilизации изменения количества В-розеток на то, что эти изменения не были увеличению ЕАС-розеток. При тенденции к снижению абсолютной сенсibilизации достоверно превышала

Обсужде

Из приведенных данных специфического антигена для морских свинок. Это прежде всего проявилось в ослаблении сенсibilизации на проявление сенсibilизации (в исследовании местной сенсibilизации в легких клеток). Эти данные о влиянии другого антигена — респираторного, что специфическая эффективность при использовании подтверждением этому могут служить сенсibilизации с выраженным клиническим эффектом, чем это и подтверждается [9]. Несмотря на то, что в эксперименте по клеточному типу, в

Методика исследований

Мы изучали иммунологические механизмы гипосенсибилизации на разработанной нами модели аллергического бронхопневмонита, характеризующегося преобладанием гиперчувствительных реакций замедленного типа [2]. В качестве антигена в иммунологических исследованиях использовался полный корпускулярный стафилококковый антиген (суточная убитая культура *Staphylococcus aureus* шт. 209). Опыты проведены на 60 морских свинок массой 350—450 г (распределенных на три группы: I группа (контроль)—20 интактных морских свинок; II группа (опыт)—20 морских свинок, сенсibilизированных в результате 10 ингаляций специфическим антигеном без последующей гипосенсибилизации; III группа (опыт)—20 сенсibilизированных морских свинок с гипосенсибилизацией. Гипосенсибилизацию проводили в период, когда развитие патологического процесса достигало максимальной выраженности. С этой целью морским свинкам внутрисердечно вводили по 0,4—0,5 мл 3 млрд взвеси стафилококкового антигена (в 1 мл взвеси содержится 300 мкг белка). На шестой день после гипосенсибилизации животным всех групп вводили внутрисердечно 0,7—0,8 мл 3 млрд взвеси стафилококкового антигена (концентрация по белку та же). В результате было отмечено, что в III группе после гипосенсибилизации выжило 75 % животных, во II группе (без гипосенсибилизации)—30 %; гибели интактных животных не наблюдалось. У животных всех групп изучали выраженность гуморального, клеточного иммунологического ответа и степень сенсibilизации. Проводили следующие иммунологические исследования: определяли — число Е [11] и ЕАС [10] розеткообразующих клеток периферической крови (процент и абсолютное число); титры агглютининов в сыворотке крови со стафилококковым антигеном; индекс торможения миграции бронхо-альвеолярных клеток [6, 8]; внутрикожные пробы с специфическим антигеном, учет которых проводили через 1—2, 24 и 48 ч. Полученные данные обрабатывали статистически [3].

Результаты исследований

Проведенные исследования показали, что иммунологические реакции клеточного и гуморального типа в результате гипосенсибилизации существенно изменяются. Результаты этих опытов представлены в таблице, из которой следует, что гипосенсибилизация вызывала значительные достоверные изменения, проявившиеся в ослаблении сенсibilизации как по результатам кожных проб, так и по индексу торможения миграции бронхо-альвеолярных клеток. После гипосенсибилизации отмечается существенное снижение интенсивности кожных проб обоих типов (немедленного и замедленного). Постановка реакции торможения миграции клеток бронхо-альвеолярной взвеси показала, что индекс миграции возрастает от 0,63 у сенсibilизированных животных до 0,87 у гипосенсибилизированных. В такой же степени достоверными оказались изменения титра агглютининов, уровень которых после гипосенсибилизации резко возрос по сравнению с периодом сенсibilизации. Гипосенсибилизация вызывала определенные изменения количества В-розеткообразующих клеток периферической крови. Несмотря на то, что эти изменения не были достоверными, отмечена выраженная тенденция к увеличению ЕАС-розеток. При возрастании В-розеткообразующих клеток наблюдалась тенденция к снижению абсолютного числа Е-розеток, хотя их уровень после гипосенсибилизации достоверно превышал количество Е-розеток у интактных животных.

Обсуждение результатов исследований

Из приведенных данных видно, что однократное использование большой дозы специфического антигена для гипосенсибилизации оказалось достаточно результативным. Это прежде всего проявилось в резком снижении выраженности сенсibilизации. Ослабление сенсibilизации нами отмечалось как по данным, характеризующим общее проявление сенсibilизации (результаты внутрикожных проб), так и на основании изучения местной сенсibilизации (результаты торможения миграции бронхо-альвеолярных клеток). Эти данные согласуются с результатами работ [7, 12], в которых использован другой антиген — растворимый (большие дозы яичного альбумина). Из этого следует, что специфическая гипосенсибилизация большими дозами может оказаться эффективной при использовании антигенов различной природы. Существенным подтверждением этому могут служить клинические наблюдения, в которых для гипосенсибилизации с выраженным клиническим улучшением использовали значительно большие дозы антигена, чем это предусмотрено существующими схемами гипосенсибилизации [9]. Несмотря на то, что в наших исследованиях развитие сенсibilизации проявлялось по клеточному типу, наиболее выраженными под влиянием гипосенсибилизации

были изменения показателей, характеризующих гуморальный иммунитет: увеличение титров противостафилококковых антител и количества ЕАС-розеток. Изменения клеточного иммунитета, о которых судили по количеству Е-розеток, были недостоверными, однако отмечалась тенденция к снижению абсолютного числа этих розеток.

Изменение иммунологических показателей под влиянием гипосенсибилизации морских свинок с аллергическим поражением легких

Группы животных	Сроки наблюдения	ЕАС-РОК		Е-РОК		Агглютинины		Индекс торможения миграции бронхо-альвеолярных клеток	Результаты внутрикожных проб	
		%	абсолютное число	%	абсолютное число	Условные единицы	Титры		Реакция немедленного типа	Реакция замедленного типа
I	До начала сенсибилизации $n=20$	33,0	1436	48,1	2128	не обнаружены		0,98	отрицательная	отрицательная
II	После 10 ингаляций (максимальная выраженность развития процесса) $n=20$	36,0	2195*	54,3	2976*	2,4	1/28	0,63*	2,5	6,0
III	После гипосенсибилизации $n=20$	36,2	2320*	52,6	2730*	5,8	1/290**	0,87**	0,8**	2,6**

Примечание. ЕАС-РОК — В-розеткообразующие клетки; Е-РОК — Т-розеткообразующие клетки. * — коэффициент достоверности $p=0,001$ во II и III группах по сравнению с I группой, ** — коэффициент достоверности $p=0,01$ в третьей группе по сравнению со второй — число наблюдений.

Полученные экспериментальные данные позволяют предположить следующий механизм ослабления сенсибилизации. Противостафилококковые антитела при вторичном иммунологическом ответе, в основном, представлены иммуноглобулинами класса G. Гипосенсибилизация большими дозами антигена, вызывающими возрастание титров противостафилококковых антител, приводит к образованию иммунных комплексов. Известно, что вирусные и микробные антигены сложны по своей природе и по своим размерам значительно превышают размеры антител. Микробные антигены поливалентны и поэтому присоединяют к своей поверхности множество антител, и такой тип связи антигенной частицы с антителами называется мультивалентной [13]. Образовавшиеся комплексы способны блокировать функциональную активность Т-лимфоцитов, принимающих участие в формировании гиперчувствительности замедленного типа [4]. Влияние комплексов может реализоваться не только на уровне эффекторных клеток, но и на уровне регуляторных клеток, в частности, супрессорных, которые несут на своей поверхности рецептор для Fc-фрагмента IgG [4].

Выводы

1. Эффект специфической гипосенсибилизации получен при использовании больших доз антигена в условиях экспериментального аллергического поражения легких.
2. Примененная схема гипосенсибилизации привела к выраженному снижению состояния сенсибилизации организма экспериментальных животных.

Список литературы

1. Адо А. Д. Частная аллергология. — М.: Медицина, 1976. — 511 с.
2. Бережная Н. М., Бордонос В. Г., Куюн Л. А., Яхимович Л. В. Экспериментальное моделирование аллергического поражения легких. — Физиол. журн., 1979, № 6, с. 658—663.
3. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. — Л.: Медицина, 1973. — 140 с.

4. Петров Р. В., Ковальчук Л. В., цитов человека. — В кн.: Реценз. докл. М., 1980, с. 5—8.
5. Aas K. Clinical and experimental gens. — Int. Archs Allergy Appl.
6. Mirvik Q. N., Leake E. S., Farr the normal rabbit: a technique 1961, 86, N 2, p. 128—132.
7. Papermaster V., Yoshida T., C tized state by serum from des 391.
8. Peterson L. B., Braley J. F., C sensitivity pneumonitis in rabbit
9. Reisman R. E., Wypych J. I., al pollen exposure and clinic ragweed specific IgE. — Int. Ar
10. Robinson J. A., Letratanakul of T- and B-lymphocytes. — J. I
11. Staderker M. J., Bishop G., M and thymus derived lymphocy N 6, p. 1834—1837.
12. Sonozaki M., Papermaster V., neous and peritoneal manifesta kine production. — J. Immunol.
13. Steensgaard J., Johanson A. and immune complex diseases.
14. Swineford O. J. Allergy versus Allergy, 1974, 33, N 5, p. 267—

Киевский медицинский институт;
Институт проблем онкологии АН

УДК 615.365.12:612—017.1

В. Т. Ант

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ К ИММУНОСУПРЕССИВНОСТЬ СЫВОРОТКОЙ ПРИ

Изучение клеточного иммунитета, направленных на управление иммунитета, представляет собой и практической иммунологии.

Активация лимфоцитов под влиянием (ФГА) широко используется в клинике. Угнетение клеточного иммунитета широко освещено в литературе [3], влияние чувствительности лимфоцитов к стимуляции ФГА. Ученые цитосывороток, некоторые авторы антигена используют различные механизмы иммунного обмена — цитохромоксидаза показано, что антицитохромоксидаза ингибирующим эффектом на активацию *in vivo*. В литературе тканевой несовместимости и митоген Т-лимфоцитов, играющих в формировании. Трансформация и пролиф

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

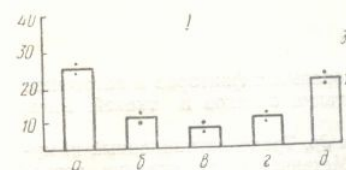
Результаты исследований представлены на рисунке, I. Обнаружено достоверное снижение числа бластов при введении АЦХОС. Если до введения АЦХОС на ФГА было зарегистрировано $24 \pm 1,2\%$ бластов, то после трехкратного введения АЦХОС на третьи сутки количество бластов снизилось до $8 \pm 1,3\%$. Подавление 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 АЦХОС. Статистически достоверно увеличилось количество бластов при аллотрансплантации кожного лоскута.



Влияние АЦХОС на функциональную активность лимфоцитов (РБТ)

1 — ЛПК, 2 — ЛПК+аллотрансплантация, 3 — ЛПК+аллотрансплантация+НСС. По вертикали — 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 не были получены и при введении АЦХОС.

VIII серия опытов была посвящена изучению активности лимфоцитов периферической крови кроликов при культивировании. 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 НСС — $1-2\%$.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что функциональная активность лимфоцитов периферической крови при культивировании зависит от количества антигена цитохромоксидазы антигена.

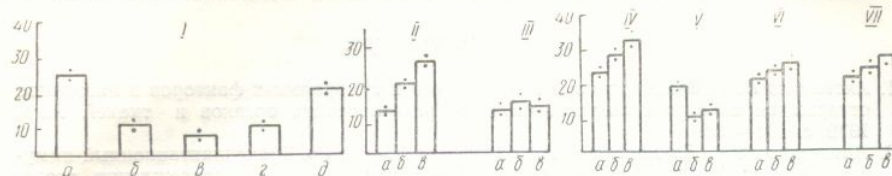
Помимо цитотоксического действия АЦХОС на функциональную активность лимфоцитов, также частичная блокада антигенов, создание гипоксического состояния, торможение процессов пролиферации лимфоцитов.

Таким образом, антицито- и антипролиферативное действие АЦХОС на функциональную активность лимфоцитов к ответу на ФГА.

1. Обнаружено достоверное снижение функциональной активности лимфоцитов периферической крови на ФГА на третьи и седьмые сутки.
2. АЦХОС обладает выраженным угнетающим действием на функциональную активность лимфоцитов в ответе на ФГА.

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 литературным данным и результатам собственных исследований автора роли противопеченочных антител в функциональном 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 противопеченочных антител 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 антител 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 также в крови.

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

III глава посвящена анализу данных исследований о роли противопеченочных антител в развитии функционального состояния печени после введения больших (сублетальных) доз патогенотоксической сыворотки, с целью фиксации значительных изменений антител в печени. Приводятся данные о нарушении желчеотделения и скреторной, белковообразовательной функции печени, об изменении активности

Алексеева И. Н.

ПРОТИВОПЕЧЕНОЧНЫЕ АНТИТЕЛА И ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ

Киев : Наукова думка, 1980. 181 с.

Иммунным факторам придают существенное значение в развитии ряда печеночных заболеваний и экспериментальных поражений печени. К ним относятся клеточные факторы иммунитета — иммунокомпетентные клетки и гуморальные — антитела. Эти факторы могут воздействовать на печень независимо друг от друга, но возможно также их совместное, взаимообусловленное действие.

Рецензируемая работа посвящена анализу литературных данных и результатов собственных исследований автора о влиянии противопеченочных антител на функциональное состояние печени в норме и при двух видах экспериментальной патологии печени: поражении четыреххлористым углеродом и экзогенными желчными кислотами.

На основании полученных экспериментальных данных автор пытается внести ясность в вопрос о том, являются ли противотканевые (в том числе и противопеченочные) аутоантитела аггессорами, защитниками или только свидетелями. Эти вопросы решаются с применением гетерогенных противопеченочных антител (антигепатоцитотоксических сывороток и выделенной из них гамма-глобулиновой фракции). Такая модель действия аутоантител, как справедливо замечает автор, не решает вопроса о причинах возникновения аутоиммунных процессов, но показывает физиологическую и патогенетическую роль антител при их появлении в организме и фиксации в печени.

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

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

III глава посвящена анализу данных различных исследователей и, главным образом, самого автора об изменении функционального состояния печени после применения больших (сублетальных) доз антигепатоцитотоксической сыворотки, сопровождающегося фиксацией значительного количества антител в печени. Приводятся данные о нарушении желчеотделительной, экскреторной, белковообразовательной функций печени, об изменении активности ряда

ферментов в ткани печени и сыворотке крови, характеризующих состояние обменных процессов в печени и проницаемости мембран гепатоцитов. Показано, что по ряду показателей повреждающее действие антигепатоцитотоксических сывороток приближается к действию такого признанного гепатотропного ядра, как четыреххлористый углерод. Однако в действии сыворотки и CCl_4 на функции печени имеются и существенные отличия.

В IV и V главах представлены данные автора по сравнительной характеристике действия в организме антигепатоцитотоксических сывороток, полученных с применением различного антигенного материала печени, а также с использованием различных методов иммунизации. Приведена сравнительная характеристика органной специфичности антимитохондриальной и антипаренхиматозной гепатоцитотоксических сывороток по данным серологических исследований и действию на структуру различных органов. Показано, что в серологических реакциях антимитохондриальная гепатоцитотоксическая сыворотка уступает антипаренхиматозной по органной специфичности. Степень воздействия на структуру различных органов и отдельных структурных элементов органа определяется, по-видимому, степенью развитости в них митохондрий. При использовании различных методов иммунизации автором получены антигепатоцитотоксические сыворотки с преимущественным содержанием комплексообразующих либо преципитирующих антител. Оказалось, что оба вида сывороток близки по своему влиянию на печень, однако существенно различаются по величине летальной дозы. В связи с тем, что сыворотки с преимущественным содержанием преципитирующих антител менее «токсичны» при введении в организм, им отдается предпочтение при рекомендации антигепатоцитотоксических сывороток для практического использования.

VI глава посвящена результатам изучения автором влияния малых доз (в 10 000 — 100 000 раз меньших, чем применяемые в качестве больших) антигепатоцитотоксических сывороток на печень, пораженную четыреххлористым углеродом или экзогенными желчными кислотами. Показано, что антигепатоцитотоксические сыворотки в малых дозах стимулируют физиологическую и репаративную регенерацию печени, способствуют нормализации обменных процессов в печени и восстановлению нарушенных функций.

В VII главе монографии приводятся данные литературы о механизме действия про-

тивотканевых антител и обсуждаются механизмы нарушения и восстановления функций печени антигепатоцитотоксической сывороткой. Автор приходит к выводу, что от количества фиксированных в печени антител и исходного функционального состояния печени зависит характер действия этих антител: их агрессивное или защитное действие. Автор дает анализ механизма действия антител на различных уровнях: от молекулярного до организменного.

Результатом анализа работ по действию малых доз антигепатоцитотоксической сыворотки является признание того, что эта сыворотка может быть рекомендована в качестве лечебного препарата.

Монография не лишена ряда недостатков. При обсуждении механизма действия противопеченочных антител следовало бы больше внимания уделить их участию в антителоопосредованной цитотоксичности лимфоцитов. Для убедительности вывода автора о том, что одним из механизмов нарушения функций печени при действии антигепатоцитотоксической сыворотки является нарушение синтеза белка в печени, следовало бы провести дополнительные исследования, непосредственно характеризующие белоксинтезирующую функцию печени. Желательно было бы привлечь больше данных для характеристики процессов, происходящих на мембране клетки при действии на нее антител.

В заключение следует отметить, что рецензируемая работа представляет собой ценное обобщение данных о характере, закономерностях и механизмах действия противопеченочных антител. Автором монографии выполнена большая экспериментальная работа по изучению действия антигепатоцитотоксических сывороток на интактную и пора-

женную печень, изучены особенности действия различных видов антигепатоцитотоксических сывороток, получены данные, характеризующие механизмы нарушения и восстановления функций печени под влиянием гетерогенных противопеченочных антител. Эти данные представляют существенный интерес для понимания роли противопеченочных аутоантител, поскольку гетероантитела моделируют их действия.

Учитывая важную физиологическую роль печени в нормальном функционировании организма, а также значение ее функционального состояния в формировании различного рода патологий следует признать данные, полученные автором монографии, весьма важными и интересными в плане их дальнейшего использования.

Модель повреждения и восстановления нарушенной функции органа с помощью антипеченочной сыворотки в различных дозах является физиологической и наиболее близкой к процессам, происходящим в печени при ее патологии. Приведенные в монографии результаты исследований открывают широкую перспективу использования антипеченочной цитотоксической сыворотки в качестве физиологического инструмента, с помощью которого можно менять функциональное состояние печени. Подобного рода воздействия могут представлять значительный интерес как для патофизиологов при изучении роли функционального состояния печени при различных видах патологии, так и для клиницистов с целью коррекции нарушенной ее функции. Книга представляет интерес для специалистов, работающих в области теоретической и практической гепатологии.

Г. И. Кулик

Зеленская Т. М.

ЭНДОКРИННЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ И ТЕСТИКУЛЯРНЫЕ АНТИТЕЛА

Киев: Наукова думка, 1981. 145 с.

Рецензируемая монография освещает проблему взаимоотношений между железами эндокринной системы (семенники, надпочечники, гипоталамо-гипофизарный комплекс) в условиях введения иммунных сывороток вообще и антителикулярной сыворотки в частности.

Работа Т. М. Зеленской является дальнейшим развитием идей А. А. Богомольца о цитотоксических сыворотках. Работа многоплановая: в ней рассматриваются вопросы эндокринологии, иммунитета, старения. Используя широкий диапазон методик, позволивших провести морфо-функциональный анализ данных, автор на уровне клеток, органов и систем изучал механизмы реализации ответа организма на введение антителикулярной сыворотки. Сыворотки, специфичные для половых желез человека и некоторых

видов сельскохозяйственных животных, нашли выход в практику.

В заслугу автора следует поставить то, что она при анализе материала исходит из положения об организме как целом, находящемся в непрерывном взаимодействии с внешней средой, а также из положения о наличии тесных межклеточных, межорганных и межсистемных взаимоотношений.

В монографии обобщен большой литературный материал и данные собственных исследований о морфо-функциональном состоянии половых желез и взаимосвязанных с ними органов и систем у половозрелых животных и у животных на поздних этапах онтогенеза при воздействии антителикулярной сыворотки, активным действующим началом которой являются антитела-тестикулоцитотоксины.

Во введении автор обосновывает истинность морфо-функционального и половых желез одновременно с надпочечниками, аденогипофизом и другими органами внутренней секреции, поскольку в функциональном отношении эти органы образуют единую систему, работа которой по принципу обратных связей.

В I главе автор рассматривает бесплодия с точки зрения аутоиммунных процессов. С целью приближения эксперимента к условиям, при которых протекает патологический процесс у человека автор использует метод введения антител-тестикулоцитотоксинов, предполагая, что введение антител извне будет имитировать процесс аутоиммунизации момента, когда в организме появляются антитела, являющиеся в данном случае генетическим фактором, способным вызвать соответствующие клетки, ткани, органы. Автор убедительно иллюстрирует реакцию антиген — антиантител различных структурных уровней: ла, клетка, ткань, орган, и организм. Фоном для анализа материала введения антител послужили данные гистофизиологии и ультраструктурной организации клеток семенников интактных животных. Этот комплекс исследований представляет и с теоретическим интересом. В этой же главе рассматриваются вопросы структуры и функции тестикулярного барьера, являющегося новинкой гисто-гематических барьеров. Изучение гистофизиологии которого важно для познания механизмов бесплодия половых желез, обуславливающих

Представлены интересные данные иммунных реакций при экспериментальном введении сыворотки, смоделированной введением тестикулярных. Показано, что это введение нарушает гематотестикулярный барьер, вызывая различные дистрофические изменения в его структурных компонентах: в семенном эпителии и клетках Сертоли. У старых животных возрастной фактор сказывается на функциональном состоянии физиологической системы соединительной ткани, что приводит к изменению иммунологической реакции организма, вследствие чего развиваются аутоиммунные процессы.

Во II главе автор рассматривает особенности гистофизиологии и структурной организации клеток семенников у животных с возрастной гипопунацией, что имеет важное значение для понимания возрастной физиологии. Кроме того, автор получил новые данные, позволяющие на клеточном и субклеточном уровне и объяснить, в определенной степени, причину повышения содержания аутоантител в семеннике: структурные изменения приводят к сдвигам антигенного состава вследствие чего последние могут считаться антигенами для собственного организма. Своими исследованиями автор подтверждает возможность такого пути развития иммунных процессов в организме.

Во введении автор обосновывает необходимость морфо-функционального изучения половых желез одновременно с надпочечниками, аденогипофизом и другими органами внутренней секреции, поскольку в функциональном отношении эти органы образуют единую систему, работа которой протекает по принципу обратных связей.

В I главе автор рассматривает вопросы бесплодия с точки зрения аутоиммунных процессов. С целью приближения условий эксперимента к условиям, при которых протекает патологический процесс у человека, автор использует метод введения готовых антител-тестикулитотоксинов, предполагая, что введение антител извне будет имитировать процесс аутоиммунизации с того момента, когда в организме появляются антитела, являющиеся в данном случае патогенетическим фактором, способным повреждать соответствующие клетки, ткани и органы. Автор убедительно иллюстрирует реализацию реакции — антиген — антитело на различных структурных уровнях: органелла, клетка, ткань, орган, и организм в целом. Фоном для анализа материала после введения антител послужили исследования гистофизиологии и ультраструктурной организации клеток семенников у интактных животных. Этот фрагмент исследований представляет и самостоятельный интерес. В этой же главе раскрываются вопросы структуры и функции гематотестикулярного барьера, являющегося разновидностью гисто-гематических барьеров, и изучение гистофизиологии которого необходимо для познания механизмов патологии половых желез, обуславливающих бесплодие.

Представлены интересные данные об аутоиммунных реакциях при экспериментальном орхите, смоделированном введением соответствующих доз тестикулярных антител. Показано, что это введение нарушает функцию гематотестикулярного барьера, вызывая различные дистрофические процессы в его структурных компонентах: стенке артериол и клетках Сертоли. У старых животных возрастной фактор сказывается на функциональном состоянии физиологической системы соединительной ткани, что приводит к изменению иммунологической реактивности организма, вследствие чего могут развиваться аутоиммунные процессы.

Во II главе автор рассматривает вопросы особенностей гистофизиологии и ультраструктурной организации клеток семенников у животных с возрастной гипофункцией гонад, что имеет важное значение с точки зрения возрастной физиологии. Кроме того, автором получены новые данные, позволяющие на клеточном и субклеточном уровнях увидеть и объяснить, в определенной мере, причину повышения содержания аутоантител к ткани семенника: структурные изменения ведут к сдвигам антигенного состава клеток, вследствие чего последние могут становиться антигенными для собственного организма. Своими исследованиями автор подтверждает возможность такого пути развития аутоиммунных процессов в организме при старении.

Наиболее важным материалом, представленным в данной главе, является доказательство возможности получения реактивирующего эффекта морфо-функционального состояния половых желез с возрастной гипофункцией с помощью соответствующих доз тестикулярных антител. Правомочен вывод автора о том, что цитотоксическая стимуляция функций соответствующих органов и систем показана лишь при снижении их активности и может быть эффективна в начале процесса, когда нет еще необратимых изменений в тканях.

В III главе автором приводятся обширные данные литературы и собственных исследований о гистофизиологии и субмикроскопической организации надпочечников в возрастном аспекте. Здесь же представлены результаты исследования реакции надпочечников животных разного возраста на воздействие тестикулярной сыворотки. Объясняются механизмы реакции.

IV глава посвящена актуальному вопросу изучения особых клеток гипоталамуса, способных не только принимать информацию, но и превращать нервные сигналы в гормональные. К так называемым трансдукционным нейроэндокринным клеткам относят гипоталамические нейроны крупноклеточных и мелкоклеточных ядер гипоталамуса. Приводится большой материал литературы по структурной и функциональной организации гипоталамо-гипофизарного комплекса, рассматриваются вопросы гипоталамической нейросекреции и гипоталамической гуморальной регуляции гонадотропной функции аденогипофиза. Представлен большой собственный материал о реакции крупноклеточных ядер гипоталамуса, срединного возвышения, задней доли гипофиза, а также состояния гонадотропной функции аденогипофиза животных разного возраста на введение антител, специфичных к половым железам животных.

В заключении автор подводит итог и указывает на основные моменты, которые были учтены при оценке результатов исследования: фактор воздействия, фактор дозы, фактор времени исследования (динамика), фактор возраста, а также высказывает свою точку зрения на понимание механизмов, которые лежат в основе реакции надпочечника, гипоталамо-гипофизарного комплекса на воздействия сыворотки, специфичной к половым железам.

Монография читается легко, с интересом, хорошо иллюстрирована. Желательно при переиздании монографию дополнить сведениями литературы и собственных исследований о состоянии Т- и В-системы иммунитета при старении, гипогонадизме и воздействии иммунных сывороток. Имеющиеся отдельные погрешности в указателе литературы не умаляют ценности представленной монографии.

Рецензируемая книга должна представить интерес для теоретиков и клиницистов, особенно изучающих проблемы геронтологии и гериатрии, а также для ветеринаров, занимающихся вопросами разведения сельскохозяйственных животных.

О. А. Богомолец

УДК 612.112.95.017.1—06:612.432

Механизмы клеточной регуляции выборки фактора, угнетающего миграцию макрофагов в эксперименте. Петров Р. В., Ковальчук Л. В., Ганковская Л. В., Сотникова Н. Ю., Соколова Е. В. — Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 387—394.

Изучали клеточную регуляцию выработки одного из медиаторов иммунной системы — фактора, угнетающего миграцию (*MIF*) при развитии иммунного ответа на туберкулин и при нарушении функции иммунной системы *in vitro* и *in vivo*. Показано, что выработка *MIF* сложный кооперативный процесс, который контролируется клетками-регуляторами различной природы: макрофагами и лимфоцитами. К супрессии *MIF* продукции могут привести воздействия разных типов: введение в сингенный организм лимфоидных клеток, иммунизации БЦЖ, рост меланомы В.16. Т-зависимый иммунодефицит, развивающийся после удаления тимуса. Проведена коррекция дефекта выработки лимфокина введением активной фракции тимуса (АФТ-6) и трансплантацией сингенных тимоцитов. Ил. 2. Табл. 2. Библиогр. 24.

УДК 576.8-097:577.1

Действие агрегированного иммуноглобулина G на секрецию гистамина из тучных клеток крыс. Гушин И. С., Зебрев А. И., Алешкин В. А. — Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 395—400.

Показана фиксация агрегированного при 63 °C IgG крыс на изолированных тучных клетках крыс. Предварительная обработка тучных клеток агрегированным IgG тормозила его последующую фиксацию на клетках. Агрегированный IgG в широких пределах концентраций (от 0,1 до 1000 мкг/мл) не вызывал высвобождения гистамина из тучных клеток, но усиливал гистаминвысвобождающее действие избирательного высвободителя гистамина — вещества 48/80. Свежая сыворотка крови крыс не приводила к проявлению гистаминвысвобождающего действия агрегированного IgG и не изменяла его влияния на высвобождение гистамина, вызванное веществом 48/80. Ил. 2. Табл. 1. Библиогр. 16.

УДК 612.127—008.9—097.3—085.273.53

О механизме активирующего действия противосердечных антител на электрическую и сократительную активность миокардиальных клеток. Ильичев Н. В., Янчий Р. И. — Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 401—409.

В опытах на изолированных ушках предсердия морских свинок с применением внутриклеточного отведения электрической активности (ПД) и регистрации изометрического напряжения исследовано действие специфических антител (0,1—1 мг белка/мл) в условиях избирательной блокады ионотранспортных систем миокардиальной клетки. Установлено, что блокада быстрых натриевых каналов, а также и бета-адренергических рецепторов, не препятствуют развитию положительной хронотропии антител, тогда как ингибирование медленных Na—Ca каналов уменьшает развитие их активирующего действия на сердечную мышцу. Сделан вывод о том, что противосердечные антитела в начальный период развития иммунологической реакции антиген — антитело приводят к активации медленных Na—Ca каналов. Ил. 4. Библиогр. 24.

УДК 616.13—004.6+616.1

Показатели иммунитета И. М., Мягкая. № 4, с. 410—416.

Установлена недостаточность проявляющих супрессорную активность, а также ссылаясь от фенотипической крови больных и здоровых, но менее больных с II-а и I-а IgG. При IV типичные, но менее M и A. В объединенные IgG и незначительное статистическое обнаружена чувствительность склерозом, а также 2. Библиогр. 20.

УДК 612.357.3:612.015.34

Роль синтеза белковых антител. Алексеев А. С. 417—421.

В опытах на крысах с патологической гамма-глобулиновой желтухой, умеренно в суммарные белки фракции канальцевое применение малых фракций на 100 г в углеродом вызывало интенсивности включения также повышение активности мембраны тета циклогексимида CCl₄ и CCl₄+АГПС животных этих двух

УДК 612.438:4:612.119.4

Автордиографическая оценка гуморального иммунитета. Журн., 1982, т. 2.

Введение ЛСВ-цитов как в тимусе, прямо пропорционально силе от условий органов. Сделан вывод о регуляции физиологической

УДК 636.082.453.5:612.0

Мишени действия антител при иммунизации кроликов. Ойвадис Р. Н., 433.

Изучали мишени ауто- или алло- либо травмой семяработки у всех сапериферической крови число живчиков в менение самок обильно снизилась на 43 % у самок, осеживчиками и до 1 нежданно было плазмой, несмотря тельно двигающихся ления и перспективы Табл. 4. Библиогр. 1

Показатели иммунитета при различных типах гиперлипопротеидемии. Ганджа И. М., Мягкая И. П., Бобрик М. В.— Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 410—416.

Установлена недостаточность Т-системы иммунитета у больных атеросклерозом, проявляющаяся уменьшением численности Т-клеток и снижением их супрессорной активности, более выраженном при IV типе гиперлипопротеидемии, а также снижением их способности к ФГА стимуляции, не зависящим от фенотипа. Процентное содержание В-лимфоцитов в периферической крови больных было повышенным, но абсолютное их количество в крови больных и здоровых не различалось, хотя при IV типе ГЛП обнаружена некоторая тенденция к снижению их, при II-б к повышению. У больных с II-а и II-б типами гиперлипопротеидемии повышено содержание IgG. При IV типе содержание IgG не отличалось от нормального. Однотипные, но менее выраженные изменения, касались иммуноглобулинов М и А. В объединенной группе больных обнаружено заметное повышение IgG и незначительное — IgM и IgA во всех случаях не подтвержденное статистическим анализом. Реакцией бласттрансформации лимфоцитов обнаружена чувствительность их к стимуляции ФГА у больных атеросклерозом, а также у практически здоровых лиц того же возраста. Табл. 2. Библиогр. 20.

УДК 612.357.3:612.015.348

Роль синтеза белка в изменении желчотока под влиянием противопеченочных антител. Алексеева И. Н.— Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 417—421.

В опытах на крысах установлено, что пятикратное применение антигепатотоксической сыворотки (АГЦС) в больших дозах (6 мг белка в гамма-глобулиновой фракции на 100 г массы тела) вызывает снижение уровня желчотока, уменьшение интенсивности включения ^{14}C белкового гидролизата в суммарные белки печени, снижение активности Na^+ , K^+ АТФазы во фракции каналикулярных плазматических мембран гепатоцитов. Трехкратное применение малых доз АГЦС ($6 \cdot 10^{-5}$ мг белка в гамма-глобулиновой фракции на 100 г массы тела) на фоне поражения печени четыреххлористым углеродом вызывает на третьи сутки увеличение уровня желчотока, интенсивности включения ^{14}C белкового гидролизата в белки печени, а также повышение активности Na^+ , K^+ АТФазы в каналикулярных плазматических мембранах гепатоцитов. Применение ингибитора белкового синтеза циклогексимида за 5 ч до начала сбора желчи у крыс, получавших CCl_4 и CCl_4 +АГЦС, снижает желчеток, нивелируя разницу в его уровне у животных этих двух групп. Ил. 3. Табл. 1. Библиогр. 17.

УДК 612.438:4:612.119.41

Авторадиографическое излучение лимфотропной активности низкомолекулярного гуморального фактора тимуса — ЛСВ. Малышев В. А.— Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 422—428.

Введение ЛСВ мышам стимулирует образование и миграцию Т-лимфоцитов как в тимусе, так и в селезенке и лимфоузлах. Интенсивность ответа прямо пропорциональна дозе препарата и проявляется по-разному в зависимости от условий и особенностей лимфоцитобразования в лимфоидных органах. Сделан вывод, что ЛСВ представляет собой фактор, участвующий в регуляции физиологической регенерации Т-клеток. Табл. 3. Библиогр. 12.

УДК 636.082.453.5:612.017.1

Мишени действия аутоантител к семенной плазме и живчикам после аутоиммунизации кроликов-самцов. Соколовская И. И., Абилов А. И., Ойвадис Р. Н., Тат Т. А.— Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 429—433.

Изучали мишени действия иммунных тел, вызванных у кроликов-самцов ауто- или аллоиммунизацией экстрактом живчиков, плазмой семени либо травмой семенника. Контролем служили те же самцы до опыта. Обработки у всех самцов резко увеличили процент спонтанных розеток в периферической крови (при $p < 0,001$); снизили объем эякулятов, общее число живчиков в них и процент морфологически нормальных гамет. Осевывание самок обнаружило новую мишень действия иммунизации самцов: резко снизилась пренатальная выживаемость со 100 % в контроле до 43 % у самок, осевываемых эякулятами самцов аутоиммунизированных живчиками и до 11 % от аллоиммунизированных. Наиболее значимым и неожиданным было полное отсутствие оплодотворения у крольчих, осевываемых эякулятами самцов, иммунизированных их собственной семенной плазмой, несмотря на хорошую подвижность их живчиков (80 % поступательно двигающихся). Обсуждаются возможные причины описанного явления и перспектива разработки на этой основе методов контрацепции. Табл. 4. Библиогр. 17.

Иммуноглобулины тестикулярной антисыворотки и их действие на органы-эффекторы. Зеленская Т. М., Ильчевич Н. В., Нишменко О. В. — Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 434—441.

In vitro и *in vivo* изучали свойства иммуноглобулинов G и M, выделенных из тестикулярной антисыворотки, специфичной к половым железам крыс. Исследования проводили на животных двух возрастных групп: половозрелых (5—7 мес) и старых (24—27 мес). Старые животные взяты в эксперимент как модель гипогонадизма возрастного характера. Использованы методы гель-фильтрации, аналитического дискэлектрофореза в полиакриламидном геле, световая и электронная микроскопия и морфо-цитометрический анализ. Показано, что IgG оказывают более выраженный, чем IgM, биологический эффект на семенники как половозрелых, так и старых животных. Результаты исследований позволяют объяснить, за счет какой фракции иммуноглобулинов вызывается специфический эффект действия тестикулярной антисыворотки, а также использовать различные концентрации IgG как инструмент воздействия на половые железы: с одной стороны для моделирования аутоиммунного процесса с целью изучения патогенеза аутоиммунного орхита, с другой — с целью реактивации морфо-функционального состояния половых желез, что имеет важное теоретическое и практическое значение. Ил. 2. Библиогр. 19.

УДК 612.017.1:615.276:616—002.5

Иммунотерапия экспериментального туберкулеза у морских свинок. Чумаков А. А., Чернушенко Е. Ф. — Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 442—447.

Исследовали влияние иммунотерапии аутологичными лимфоцитами, стимулированными *in vitro* ФГА в течение 48 ч, на иммунологическую реактивность и течение туберкулезного процесса у морских свинок, зараженных вирулентными микробактериями туберкулеза через 30 дней после вакцинации БЦЖ. Умеренное супрессорное действие стимулированных ФГА лимфоцитов на фоне антибактериальной терапии изониазидом приводило к уменьшению количества Е-РОК в тимусе и костном мозге, а также ЕАС-РОК в селезенке, нормализовало формулу крови, снижало степень лимфоидной пролиферации в тимусе, селезенке, лимфатических узлах и, очевидно, в очагах поражения, значительно усиливало терапевтическую эффективность химиопрепарата. Табл. 2. Библиогр. 17.

УДК 615.365:616—092.4.9

Ранняя реакция клеток-мишеней на действие малых доз специфических антител. Барченко Л. И. — Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 448—456.

На модели в культуре тканей семенника методами электронной микроскопии и цитохимии изучена реакция клеток в первые часы и сутки после начала действия малых доз специфических антител. Показано, что на субклеточном уровне развивается ряд изменений, затрагивающих в первую очередь эндоплазматическую сеть, митохондрии, лизосомный аппарат клетки и комплекс Гольджи. В первые 3 ч после воздействия на клетки малых доз специфических антител наступает кратковременный период нерезкого обратимого нарушения внутриклеточных структур, что, наряду с другими факторами, является побудительной причиной репаративной внутриклеточной регенерации, сопровождающейся повышением жизнедеятельности клеток. Направленное воздействие на отдельные внутриклеточные структуры можно усилить путем использования антител с преимущественной специфичностью к этим структурам. Ил. 5. Табл. 1. Библиогр. 24.

УДК 616.122.32—07:616.5—002.525.2:617.758.6+616.152.32—072.7

Функциональная активность Т-лимфоцитов супрессоров и хелперов при аллотрансплантации почки в эксперименте. Дранник Г. Н., Когут Г. И., Глухенькая Г. Т., Монгад Т. С., Калинина Н. А., Литвищенко Е. И. — Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 457—463.

Изучали функциональную активность Т-лимфоцитов супрессоров и хелперов при аллотрансплантации почки собакам без иммунодепрессии, а также при применении АЛГ и преднизолона с имураном. У интактных собак в первую неделю после трансплантации наблюдалось снижение супрессорной и повышение хелперной активности Т-клеток. К концу первой недели активность Т-супрессоров возрастала, а Т-хелперов постепенно снижалась. При использовании АЛГ активность обеих клеточных субпопуляций была существенно подавлена уже перед пересадкой (препарат вводили до операции). После операции активность Т-супрессоров продолжала оставаться резко сниженной, а Т-хелперов — повышалась до исходного уровня. Имуран с преднизолоном оказывали на супрессоры такое же влияние, как и АЛГ. Функциональная активность Т-хелперов под влиянием имурана и преднизолона, напротив, повышалась. Ил. 4. Библиогр. 18.

Иммунологические ном криовоздействия № 4, с. 464—468.

В опытах на сс воздействие на при 7S-аутоантител и г антигенов простат прямой корреляции стательной железы цитов, в то время тельным антипрост на фоне снижения мощью теста блас конканавалин А, м также физиологи

УДК 576.8.097.1:612.01

Организация анти зиол. журн., 1982, т.

Рассматривают овойства антигенн их способность ин характеристика ти тигенов, анализиру новыми и другими также потребность гими иммунокомп вания иммунного (антигены анализир лекулы антигена в вспомогательными

УДК 612.173.1:612.017

Антигены сердца. ская О. В. — Физ

Обобщаются органоспецифическ Приведены характ об их субклеточно ствие на сердце

УДК 616—056.3—085

Современные под Гюллинг Э. В., с. 491—495.

Приведены со дукции IgE анти лерантность може синтетических ант генным носителем собы коррекции г тигеннеспецифичес факторы, получен же супрессорные собственных иссле эксперименте и кл тимических и син помощью физичес Библиогр. 39.

Иммунологические изменения в организме при локальном пролонгированном криовоздействии. Чернышов В. П. — Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 464—468.

В опытах на собаках показано, что пролонгированное локальное криовоздействие на предстательную железу приводит к образованию 19S- и 7S-аутоантител и гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) против антигенов простаты. Титры 19S-антипростатных аутоантител находятся в прямой корреляции с содержанием органоспецифического антигена предстательной железы и выявляются на фоне повышения реактивности лимфоцитов, в то время как ГЗТ и 7S-антитела сопряжены с последующим длительным антипростатным аутоиммунным процессом, который развивается на фоне снижения реактивности Т-лимфоцитов, что подтверждено с помощью теста бласттрансформации на фитомиогены: фитогемагглютинин, конканавалин А, митоген лаконоса. Выделены фазы иммунного ответа, а также физиологический и патологический его характер. Библиогр. 5.

Организация антигена и активация В-лимфоцитов. Кашкин К. П. — Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 469—477.

Рассматриваются особенности молекулярной организации антигенов и овойства антигенных детерминат, определяющие специфичность антигенов и их способность индуцировать гуморальный иммунный ответ. Приводится характеристика тимус-зависимых и разных типов тимус-независимых антигенов, анализируется их способность взаимодействовать с иммуноглобулиновыми и другими рецепторами В-лимфоцитов разной степени зрелости, а также потребность отвечающих на антиген В-клеток в кооперации с другими иммунокомпетентными клетками. На основании результатов исследования иммунного ответа на различные модифицированные и синтетические антигены анализируется значение отдельных функциональных участков молекулы антигена в активации В-лимфоцитов и кооперации лимфоцитов со вспомогательными клетками. Ил. 4. Библиогр. 45.

Антигены сердца. Бутенко Г. М., Мойбенко А. А., Шабловская О. В. — Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 485—491.

Обобщаются современные данные об антигенном составе сердца, об органоспецифических и общих с другими органами антигенах миокарда. Приведены характеристики органоспецифических антигенов сердца и данные об их субклеточной локализации. На основании сведений обсуждается действие на сердце специфических антикардиальных антител. Библиогр. 59.

Современные подходы к проблеме коррекции гипер-IgE антителиогенеза. Гюллинг Э. В., Дюговская Л. А. — Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 491—495.

Приведены современные данные о способах коррекции повышенной продукции IgE антител. Показано, что специфическая иммунологическая толерантность может быть индуцирована введением модифицированных или синтетических антигенов, либо введением антигенов, связанных с толерогенным носителем. Отмечено, что наиболее перспективными являются способы коррекции гиперпродукции IgE антител, основанные на усилении антигеннеспецифической супрессии. С этой целью в эксперименте используют факторы, полученные при культивировании аллогенных лимфоцитов, а также супрессорные факторы некоторых гибридом. Обсуждаются результаты собственных исследований о возможности регуляции IgE антителиогенеза в эксперименте и клинике с помощью парентерального и местного применения тимических и синтетических (левамизол) иммуномодуляторов, а также с помощью физических факторов (ультразвук, переменное магнитное поле). Библиогр. 39.

К вопросу о механизме действия биологически активных препаратов тимуса и селезенки на первичный и вторичный гуморальный иммунный ответ. Чеботарев В. Ф., Ермакова Н. И., Антоненко А. В., Валуева Т. К.— Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 496—498.

В опытах на мышах СВА установлено, что у неоперированных животных тимозин и спленин увеличивают число антителообразующих клеток (АОК) при первичном и вторичном ответе, но по-разному влияют на активность Т-супрессоров антителообразующих клеток. Тимозин ее не изменяет, а спленин увеличивает. Удаление надпочечников снижает все виды гуморального иммунного ответа у мышей и избирательно повышает чувствительность Т-супрессоров к тимозину. Авторы делают вывод о действии тимозина и спленина на различные звенья системы, регулирующей антителообразование и считают рациональным комплексное применение этих препаратов для обеспечения направленных изменений иммунных реакций. Табл. 1. Библиогр. 11.

УДК 616—056.3.001.6:616.24:576.8.097.33

Гипосенсибилизация при аллергическом поражении легких в эксперименте. Куюн Л. А., Бордонос В. Г., Бережная Н. М.— Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 498—501.

В условиях аллергического бронхопневмонита проводилась специфическая гипосенсибилизация большими дозами стафилококкового антигена. В результате отмечено выраженное снижение состояния сенсибилизации, что проявляется в заметном ослаблении кожных реакций немедленного и замедленного типов, и также в реакции торможения миграции клеток бронхиальных смывов. Табл. 1. Библиогр.: 14.

УДК 615.365.12:612—017.1

Функциональная активность лимфоцитов периферической крови и лимфоузлов в условиях иммуносупрессии антицитохромоксидазной сывороткой при аллотрансплантации кожи. Антоненко В. Т., Городецкая С. Ф.— Физиол. журн., 1982, т. 28, № 4, с. 501—504.

Антицитохромоксидазные антитела могут быть использованы для моделирования клеточной патологии, проявляющейся в изменении функциональной способности лимфоцитов к ответу на ФГА. АЦХОС обладает выраженным иммуносупрессивным действием, проявляющимся в увеличении сроков отторжения аллотрансплантатов кожи, в достоверном уменьшении количества лимфоцитов периферической крови, снижении количества blast в РБТ по сравнению с контрольной серией исследования и введения НСС, а также снижении функциональной способности лимфоцитов периферической крови и лимфоузлов в РБТ. Ил. 1. Табл. 1. Библиогр. 21.

Petrov R. V., Kovalchuk L. V., Ga
Cellular Regulation Mechan
hibition Factor in Experime
Gushchin I. S., Zebrev A. I., Ale
G on Histamine Secretion f
Ilchevich N. V., Yanchy R. I. On
Effect on Electrical and C
Gandzha I. M., Myagkaya I. P.,
lipoproteinemia Types
Alekseeva I. N. The Role of Pr
Antihepatic Antibody Effect
Malyzhev V. A. Autoradiographic
Molecular Humoral Factor
Sokolovskaya I. I., Abilov A. I.,
gets of Seminal Plasma an
Zelenskaya T. M., Ilchevich N.
cular Antiserum and Their
Chumak A. A., Chernushenko E
in Guinea Pigs
Barchenko L. I. An Early Resp
Antibody Doses
Drannik G. N., Kogut G. I., Glu
vishchenko E. I. Functional
in the Experimental Renal
Chernyshov V. P. Immunologic
ged Cryodestruction

Kashkin K. P. Antigen Organiz
Komissarenko S. V. Production
nospecific and Monoclonal
Butenko G. M., Moibenko A. A.,
Gyulling E. V., Dyugovskaya I
of Hyper-IgE Antibodygen

Chebotarev V. F., Ermakova N.
lem of Mechanism of Biolo
tion on Primary and Secc
Kuyun L. A., Bordonos V. G., B
Affection of Lungs in the
Antonenko V. T., Gorodetskaya
phocytes and Lymph Node
rum Immunosuppression in

Kulik G. I., Alekseeva I. N. Ant
Bogomoletz O. A. Zelenskaya T
tibodies

CONTENTS

<i>Petrov R. V., Kovalchuk L. V., Gankovskaya L. V., Solnikova N. Yu., Sokolova E. V.</i>	
Cellular Regulation Mechanisms for Production of Macrophage Migration Inhibition Factor in Experiment	387
<i>Gushchin I. S., Zebrev A. I., Aleshkin V. A.</i>	
Effect of Aggregated Immunoglobulin G on Histamine Secretion from Mast Cells of Rats	395
<i>Ilchevich N. V., Yanchy R. I.</i>	
On the Mechanism of Activating Anticardiac Antibody Effect on Electrical and Contractile Activity of Myocardial Cells	401
<i>Gandzha I. M., Myagkaya I. P., Bobrik M. V.</i>	
Immunity Indices in Various Hyperlipoproteinemia Types	410
<i>Alekseeva I. N.</i>	
The Role of Protein Synthesis in Bile Secretion Variation Under Antihepatic Antibody Effect	417
<i>Malyzhev V. A.</i>	
Autoradiographic Study of the Lymphocytotropic Activity of a Low-Molecular Humoral Factor from the Thymus—LSS	422
<i>Sokolovskaya I. I., Abilov A. I., Oivadis P. N., Tag T. A.</i>	
Autoantibody Action Targets of Seminal Plasma and Sperms After Autoimmunization of Male Rabbits	429
<i>Zelenskaya T. M., Ilchevich N. V., Nishchimenko O. V.</i>	
Immunoglobulins of Testicular Antiserum and Their Action on Effector Organs	434
<i>Chumak A. A., Chernushenko E. F.</i>	
Immunotherapy of Experimental Tuberculosis in Guinea Pigs	442
<i>Barchenko L. I.</i>	
An Early Response of Target Cells to the Effect of Low Specific Antibody Doses	448
<i>Drannik G. N., Kogut G. I., Glukhenkaya G. T., Montag T. S., Kalinina N. A., Litvishchenko E. I.</i>	
Functional Activity of Suppressor and Helper T-lymphocytes in the Experimental Renal Allotransplantation	457
<i>Chernyshov V. P.</i>	
Immunological Changes in the Organism After Local Prolonged Cryodestruction	464

Surveys

<i>Kashkin K. P.</i>	
Antigen Organization and B-Lymphocyte Activation	469
<i>Komissarenko S. V.</i>	
Production of Monoclonal Antibodies and Application of Monospecific and Monoclonal Antibodies in Immunochemical Analysis	477
<i>Butenko G. M., Moibenko A. A., Shablovskaya O. V.</i>	
Antigens of the Heart	485
<i>Gyulling E. V., Dyugovskaya L. A.</i>	
The Present-Day Approaches to the Problem of Hyper-IgE Antibodygenesis Correction	491

Brief Notes

<i>Chebotarev V. F., Ermakova N. I., Antonenko A. V., Valueva T. K.</i>	
On the Problem of Mechanism of Biologically Active Thymus and Spleen Preparation Action on Primary and Secondary Humoral Immune Response	496
<i>Kuyun L. A., Bordonos V. G., Berezhinaya N. M.</i>	
Hyposensibilization Under Allergic Affection of Lungs in the Experiment	498
<i>Antonenko V. T., Gorodetskaya S. F.</i>	
Functional Activity of Peripheral Blood Lymphocytes and Lymph Nodes Under Conditions of Anticytochrome Oxidase Serum Immunosuppression in Skin Allotransplantation	501

Reviews

<i>Kulik G. I., Alekseeva I. N.</i>	
Antihepatic Antibodies and Liver Functions	505
<i>Bogomoletz O. A., Zelenskaya T. M.</i>	
Endocrinic Interrelations and Testicular Antibodies	506

1 р. 40 к.

74523

НАУКОВА ДУМКА

*Ф-из
физиол.*

Физиол. журн., 1982, т. XXVIII, № 4, 385—512