

(% контроля), представ-
низкоустойчивых к гипок-
и активности митохондрий
оянию митохондриального
енного дыхания ($\dot{V}_O$), пол-
диапазонов дыхательной
даным [4, 8, 9, 10] тако-
ю реакцию митохондрий
силы. Для низкоустойчи-
жение скорости дыхания
изменение скорости дыха-
оустойчивых и низко-
фенобарбитала выявлены
а дыхательной активности
к к гипоксии крыс харак-
оустойчивых — увеличение

ко- и низкоустойчивыми к
рий их печени на введение
ичиях ферментной системы
ни неоднократно демонст-
юсти биологических реак-
спечивающих их структур
характерна более выра-
ондрией печени при введе-
ойчивыми животными.

BITAL ACTION ER MITOCHONDRIA Y TO HYPOXIA

tochondria on the phenobarbital
resistance to hypoxia. Intact rats
meters of the respiratory activity.
more pronounced reactivity of
phenobarbital introduction than

на гипоксию // Физиол. журн.—

ты на дыхание и фосфорилиро-
Укр. биохим. журн.— 1980.— 52,

ояния митохондрий и реактив-
в норме и патологии.— М.: На-

й при усиливающемся воздейст-
312—322.

ости в динамике изменений кон-
отического процессе // Бюл. экс-
—306.

фракция дыхания — наиболее
нений физиологического состо-
егуляция энергетического обмен-
С. 24—32.

яне янтарнокислого натрия на
зное фосфорилирование // Тера-
976.— С. 119—122.

ности энергетического обмена в
итые // Митохондриальные про-
ги.— Пушино, 1978.— С. 32—34.

зиол. журн., 1986, т. 32, № 4

9. Тугаринова В. Н., Елисеєва С. В., Лаврова Л. А. Динамика некоторых показателей дыхания митохондрий гепатоцитов и функционально-морфологические характеристики печени в разные периоды развития и инфлюенции цирроза // Там же.— С. 34—38.
10. Цвиренко С. В. Изменение реакции дыхательной цепи митохондрий и пластического обмена в регенерирующей печени при острой гипоксии // Там же.— С. 39—41.
11. Chance B. Reaction of oxygen with the respiratory chain in cells and tissues // J. Gen. Physiol.— 1965.— 49, N 1/2, P. 163—195.
12. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem.— 1951.— 193, N 1.— P. 256—267.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 19.04.85

УДК 615.371:579.861.2

С. А. Бобровник, К. П. Лященко

ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ АДОПТИВНОГО ПЕРЕНОСА ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ К СТАФИЛОКОККУ ИНТАКТНЫМ РЕЦИПИЕНТАМ

Ранее мы установили, что внутривенное введение спленоцитов, полученных от иммунизированных инактивированным стафилококком мышей, интактным сингенным животным непосредственно перед инъекцией гомологичного антигена приводит к достоверному усилению иммунного ответа реципиентов [3]. Обнаруженное явление принципиально отличается от общеизвестного феномена антигенспецифической супрессии иммунного ответа, наблюдаемого при трансплантации спленоцитов животных, иммунизированных, например, эритроцитами барана [5, 8]. Эти различия связаны, вероятно, с тем, что специфические по отношению к стафилококку клетки иммунологической памяти по каким-то свойствам отличаются от аналогичных лимфоидных клеток, специфических по отношению к другому антигену. Отличия клеток могут обуславливать отсутствие «изогенного барьера» в случае адаптивного переноса иммунных к корпускулярному антигену стафилококка (КАС) спленоцитов интактным сингенным реципиентам [4].

В настоящей работе представлены результаты дальнейшего исследования обнаруженного феномена. Изучена его зависимость от дозы антигена, длительности интервала между иммунизацией доноров и трансплантацией иммунных клеток, а также от генотипа пары донор—реципиент.

Методика

Исследования проведены на мышах линий СВА, BALB/c, C59BL/6, СЗН и гибридах (СВА×С57BL/6)F₁ массой 18—20 г, полученных из питомников лабораторных животных «Столбовая» и «Рапполово» АМН СССР. КАС готовили, как описано ранее [3]. Донорами иммунных клеток селезенки (КС) служили мыши, которых предварительно внутривенно иммунизировали различными дозами КАС за 1—5, 30 или 90 сут до трансплантации. Взвесь спленоцитов в 0,5 мл фосфатно-солевого буфера (рН 7,2) вводили внутривенно интактным сингенным реципиентам, которых затем иммунизировали КАС (5·10⁶ микробных тел). Животным контрольной группы вводили 0,5 мл буфера и КАС.

Число антителообразующих клеток (АОК), специфичных к КАС, в селезенках мышей определяли методом иммунофлюоресцентных отпечатков [1]. Титры сывороточных антител к стафилококку оценивали в реакции агглютинации с помощью микротитратора Такачи. Агглютинины класса G определяли в сыворотке крови мышей после ее предварительной обработки раствором (0,1 моль/л) 2-меркаптоэтанола. Полученный цифровой материал статистически обрабатывали с учетом критерия достоверности Стьюдента.

Физиол. журн., 1986, т. 32, № 4

Внутривенное введение $3 \cdot 10^7$ КС, полученных от примированных стафилококком мышей линии СВА, сингенным интактным животным перед иммунизацией последних КАС приводило к усилению иммунного ответа реципиентов (рис. 1). Как видно из рисунка, титры агглютининов в сыворотке крови реципиентов иммунных спленоцитов статистически достоверно ($P < 0,05$) превышали контрольные значения, начиная с 4-х суток после введения антигена и до конца опыта (10-х суток). Следует также отметить, что гуморальный иммунный ответ на стафи-

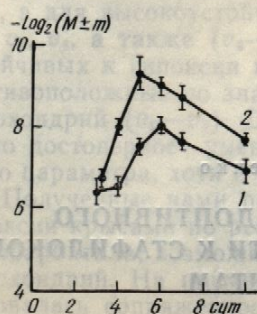
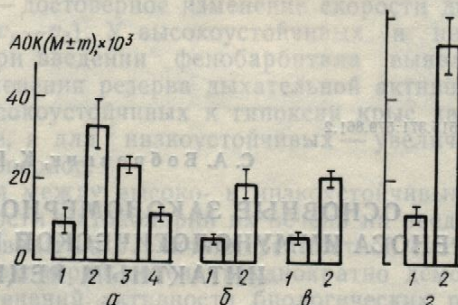


Рис. 1. Динамика (сут) формирования гуморального иммунного ответа у реципиентов (по титру противостафилококковых антител — $\log_2$) на КАС (1) и КАС+иммунные КС (2).

Рис. 2. Число антителообразующих клеток в селезенке реципиентов различных линий, получавших КАС (1), КАС+КС внутривенно (2), КАС+КС внутрибрюшинно (3); КАС+интактные КС (4):
а — BAL B/c; б — СВА; в — С57BL/6; г — СЗН.



лококк у мышей, получивших иммунные КС, отличался кроме того более быстрым достижением максимального значения содержания сывороточных антител (5-е сутки — у реципиентов иммунных КС, 6-е сутки — у контрольных животных).

Опыты по адоптивному переносу иммунологической памяти у мышей четырех линий (СВА, BAL B/c, С57BL/6, СЗН) показали, что повышение иммунореактивности к КАС у реципиентов иммунных спленоцитов — нелинейспецифичный феномен (рис. 2). Однако усиление продукции антител в этих опытах варьировало в зависимости от генотипа пары донор—реципиент и была пропорциональна генетически детерминированной иммунореактивности мышей данной линии на стафилококк. Например, максимальный эффект наблюдали в случае адоптивного переноса на мышах линии СЗН, которая, согласно нашим данным [2] — высокореагирующая на КАС линия.

Следует также отметить, что статистически достоверное увеличение иммунного ответа на стафилококк мы наблюдали при трансплантации примированных КС не только в сингенной, но и в полуаллогенной системе, когда гибридам (СВА $\times$ С57BL/6) F_1 вводили иммунные (но не интактные) спленоциты мышей линии СВА. При этом повышение гуморального антистафилококкового иммунитета, вероятно, обусловлено не одним лишь увеличением численности лимфоидных клеток в иммунной системе после трансплантации КС, так как стимулирующий эффект отсутствовал при введении мышам $5 \cdot 10^7$ интактных КС, но наблюдался при переносе $1 \cdot 10^7$ иммунных КС, т. е. не более 1/10 части числа кариоцитов селезенки.

Установлено также, что внутривенное примирование доноров клеток более эффективно по сравнению с внутрибрюшинной иммунизацией (см. рис. 2, а). Следовательно, способность иммунных КС повышать иммунореактивность интактных реципиентов зависит от интенсивности антигенной стимуляции. Об этом свидетельствуют также результаты опытов, которые показали, что стимулирующая активность иммунных

спленоцитов повышается при переносе на реципиентов с нормальным уровнем спленоцитов (рис. 3). Ответ на стафилококк интактных спленоцитов, трансплантационных реципиентов.

На рис. 4 представлен график зависимости эффекта от интервала между иммунизацией доноров и реципиентов. Как видно из рисунка, эффект был максимален при интервале в 3-4 недели.

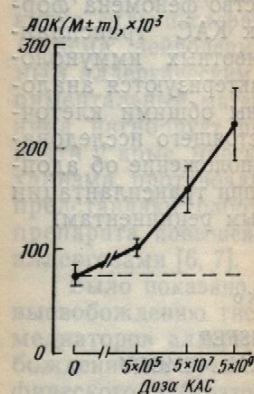


Рис. 3. Влияние дозы КАС на динамику формирования гуморального иммунного ответа у реципиентов.

Рис. 4. Динамика формирования гуморального иммунного ответа у реципиентов в зависимости от интервала между иммунизацией доноров и реципиентов.

а — зависимость числа АОК ($1 \cdot 10^3$) от интервала между иммунизацией доноров клеток и реципиентов (столбик) и устойчивых к 2-меху в сыворотке крови мышей, получивших КАС (3) и 4.

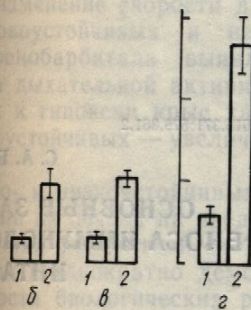
доноров клеток (через 1-2 недели) реципиентов. Стимулирующая активность сыворотки КС реципиентов на 3-и сутки

Дальнейшее изучение способности иммунных КС к переносу иммунного ответа на реципиентов сингенным реципиентам более выражена для комбинации СВА-СЗН, чем для комбинации СВА-BAL B/c. Это связано с тем, что у реципиентов СВА-СЗН в сыворотке крови на 3-и сутки до трансплантации КС наблюдался значительный уровень агглютининов ($P < 0,01$). С другой стороны, у реципиентов СВА-BAL B/c на 3-и сутки до трансплантации КС в сыворотке крови не наблюдалось агглютининов ($P > 0,05$). Следовательно, эффект переноса КС на реципиентов зависит от генетически обусловленного уровня клеток и адоптивных

Следует отметить, что эффект переноса КС на реципиентов сингенным реципиентам более выражен для комбинации СВА-СЗН, чем для комбинации СВА-BAL B/c. Это связано с тем, что у реципиентов СВА-СЗН в сыворотке крови на 3-и сутки до трансплантации КС наблюдался значительный уровень агглютининов ($P < 0,01$). С другой стороны, у реципиентов СВА-BAL B/c на 3-и сутки до трансплантации КС в сыворотке крови не наблюдалось агглютининов ($P > 0,05$). Следовательно, эффект переноса КС на реципиентов зависит от генетически обусловленного уровня клеток и адоптивных

кдение

енных от примированных
ым интактным животным
ило к усилению иммунного
рисунка, титры агглютини-
ных спленоцитов статисти-
контрольные значения, начи-
конца опыта (10-х суток).
иммунный ответ на стафи-



иммунного ответа у реципиентов
на КАС (1) и КАС+иммунные

е реципиентов различных линий,
АС+КС внутрибрюшинно (3);
1; 2 — СЗН.

отличался кроме того бо-
начения содержания сыво-
в иммунных КС, 6-е сут-

ологической памяти у мы-
6, СЗН) показали, что по-
иентов иммунных сплено-
2). Однако усиление про-
зависимости от генотипа
льна генетически детерми-
ой линии на стафилококк.

в случае адоптивного пе-
асно нашим данным [2] —

ки достоверное увеличение
дали при трансплантации
но и в полуаллогенной
1 вводили иммунные (но
А. При этом повышение
ета, вероятно, обусловле-
лимфоидных клеток в
так как стимулирующий
6 · 10⁷ интактных КС, но
т. е. не более 1/10 части

имирование доноров кле-
брюшинной иммунизацией
иммунных КС повышать
зависит от интенсивности
вуют также результаты
ая активность иммунных

спленоцитов повышается по мере увеличения дозы КАС, введенной до-
норам спленоцитов (рис. 3). Кроме того степень усиления иммунного
ответа на стафилококк повышалась с увеличением числа примирован-
ных спленоцитов, трансплантированных интактным сингенным реци-
пиентам.

На рис. 4 представлены результаты изучения зависимости обнару-
женного нами эффекта усиления антителообразования от длительности
интервала между иммунизацией доноров спленоцитов и введением
интактным реципиентам иммунных КС. Видно, что трансплантация им-
мунных спленоцитов, полученных в ранние сроки после примирования

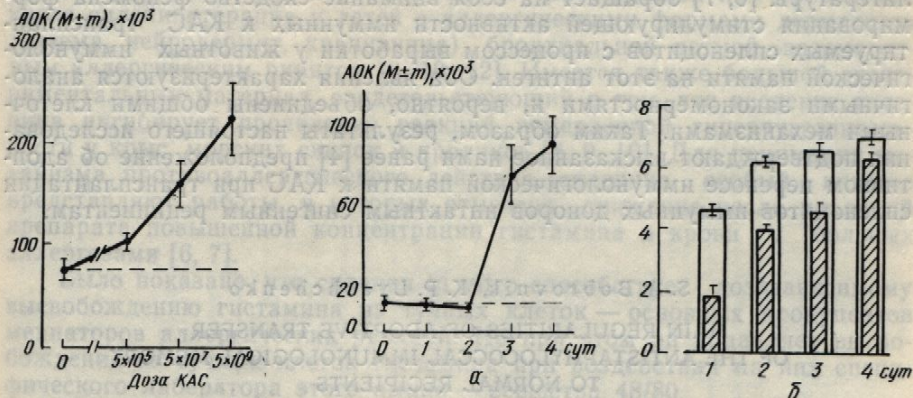


Рис. 3. Влияние дозы КАС на формирование стимулирующей способности иммунных спленоцитов.

Прерывистая линия — уровень контроля (КАС+интактные КС).

Рис. 4. Динамика формирования стимулирующей способности иммунных к стафилококку спленоцитов:

а — зависимость числа АОК ($1 \cdot 10^3$) в селезенке реципиентов от длительности интервала (сут) между иммунизацией доноров клеток и адоптивным переносом ($M \pm m$); б — титры суммарных (светлые столбики) и устойчивых к 2-меркаптоэтанолу (заштрихованные столбики) антител к КАС ($-\log_2$) в сыворотке крови мышей, получивших интактные КС (1), а также иммунные КС через 5 (2), 30 (3) и 90 (4) сут после примирования доноров.

доноров клеток (через 1—2 сут), не изменяла числа АОК в селезенках реципиентов. Стимулирующую способность спленоцитов впервые обнаруживали на 3-и сутки после внутривенного введения КАС.

Дальнейшее изучение этого вопроса показало, что стимулирующая способность иммунных КС возрастала с увеличением длительности интервала между иммунизацией доноров клеток и их введением интактным сингенным реципиентам (см. рис. 4, б). Подобная тенденция еще более выражена для концентрации сывороточных антител, принадлежащих к иммуноглобулину класса G. Так, если агглютинирующая активность сыворотки крови мышей, получивших спленоциты доноров, иммунизированных стафилококком за 5 или 30 сут до трансплантации, значительно снижалась после инкубации в растворе (0,1 моль/л) 2-меркаптоэтанол ($P < 0,01$), то практически все антитела к стафилококку в сыворотке крови реципиентов КС животных, иммунизированных на 3 мес до трансплантации клеток, были резистентны к подобной обработке ($P > 0,05$). Следовательно, повышение уровня сывороточных агглютининов у реципиентов иммунных КС происходит в значительной мере за счет IgG-синтезирующих клеток, что более выражено при увеличении длительности интервала между антигенной стимуляцией доноров клеток и адоптивным переносом.

Следует отметить, что оптимальные условия развития способности иммунных спленоцитов усиливать иммунореактивность животных на стафилококк (высокие дозы антигена, длительный интервал между иммунизацией доноров и трансплантацией иммунных клеток реципиентам, генетически обусловленная иммунореактивность животных на данный антиген) в основном совпадают с теми требованиями, которые необхо-

димы для индукции супрессорных клеток в селезенке при иммунизации животных другими антигенами, например эритроцитами барана [5, 8]. Этот факт наряду с другими указывает на существование пока не совсем понятных отличительных особенностей КАС как иммуногена, в связи с чем, вероятно, следует соблюдать осторожность при экстраполяции общими иммунологическими феноменами и закономерностями, полученных в экспериментах с немикробными антигенами, на противостафилококковый иммунитет, а возможно и антибактериальный иммунитет в целом.

При сопоставлении приведенных в настоящей работе данных с результатами наших предыдущих исследований [2, 3], а также с данными литературы [6, 7] обращает на себя внимание сходство феномена формирования стимулирующей активности иммунных к КАС трансплантируемых спленцитов с процессом выработки у животных иммунологической памяти на этот антиген. Оба явления характеризуются аналогичными закономерностями и, вероятно, объединены общими клеточными механизмами. Таким образом, результаты настоящего исследования подтверждают высказанное нами ранее [4] предположение об адаптивном переносе иммунологической памяти к КАС при трансплантации спленцитов иммунных доноров интактным сингенным реципиентам.

S. A. Bobrovnik, K. P. Lyashchenko

MAIN REGULARITIES OF ADOPTIVE TRANSFER OF THE ANTISTAPHYLOCOCCAL IMMUNOLOGICAL MEMORY TO NORMAL RECIPIENTS

The increase of immune reactivity to staphylococci in recipients injected by primed spleen cells was studied on CBA, C3H, BALB/c, C57BL/6 and (CBA×C57BL/6)F₁ mice. The enhancement-effect was observed in syngeneic adoptive transfer experiments on all strains of mice and also in semiallogeneic system when immune cells of CBA mice were transferred to recipients (CBA×C57BL/6)F₁. Dependence of the stimulatory ability of primed splenocytes on the antigen dose and interval between priming and adoptive transfer was established. It was concluded that enhancement of immune response to staphylococci after transplantation of primed splenocytes is due to the anamnestic reaction of donor memory cells stimulated by antigen in the recipient's organism for the second time.

T. G. Shevchenko University, Kiev

1. Бобровник С. А. Метод обнаружения антителообразующих клеток, специфичных к корпускулярным бактериальным антигенам // Иммунология.— 1983.— № 5.— С. 91—92.
2. Бобровник С. А., Лященко К. П. Иммунный ответ и формирование иммунологической памяти на стафилококк у мышей различных генотипов // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.— 1985.— № 6.— С. 64—68.
3. Вершигора А. Е., Бобровник С. А. Динамика и факторы регуляции гуморального иммунного ответа на стафилококк // Там же. 1982.— № 11.— С. 101—104.
4. Лященко К. П., Бобровник С. А. Адаптивный перенос иммунологической памяти к стафилококку интактным реципиентам // Физиол. журн.— 1985.— 31, № 1.— С. 44—48.
5. Писарев В. М., Певницкий Л. А. Изучение феномена специфической супрессии иммунного ответа в системе адаптивного переноса // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1977.— № 5.— С. 571—573.
6. Feldbush T. L. Inhibition of adoptive secondary response by lymphoid cell populations // Cell. Immunol.— 1976.— 24, N 1.— P. 132—145.
7. Weiler E., Adam G., Schuler W., Weiler I. J. Clonal selection and network regulation // 27th Mosbacher Colloquium / Eds.: F. Melchers, K. Rajewsky.— Berlin: Springer, 1976.— P. 267—276.
8. Whisler R. L., Stobo J. D. Suppression of humoral and delayed hypersensitivity responses by distinct T-cell subpopulations // J. Immunol.— 1978.— 121, N 2.— P. 539—542.

Киев, ун-т им. Т. Г. Шевченко
МВССО УССР

Поступила 18.07.85

ФУНКЦИОНАЛ КЛЕТОК КРЫС

Препарат спленин, изготавляемый из селезенки скота, в настоящее время используется для лечения некоторых аллергических заболеваний [5, 7, 10]. В частности, хороший эффект наблюдается при курсовом применении спленинотерапии у дерматозов, экзем, нейродермита, крапивницы, аллергического ринита, бронхиальной астмы. Спленин ингибирует проявления аллергии у крыс, морских свинок, собак. Механизм действия препарата повышенная концентрация гистамина в крови, в ко-нечности, приводит к развитию аллергических заболеваний [6, 7].

Было показано, что спленин способствует высвобождению гистамина из тучных клеток. В настоящей работе описаны результаты экспериментального введения спленина крысам и попытка установить механизм действия спленина на тучные клетки.

В настоящей работе описаны результаты экспериментального введения спленина крысам и попытка установить механизм действия спленина на тучные клетки.

Работа проведена на 35 крысах породы Вистар. Спленин изготавлялся из селезенки коровы, как описано Гушиным [1]. Во время эксперимента количество тучных клеток не превышало 10⁶/мл. Разведенный физиологическим раствором спленин вводили по различным схемам: 1-я — по 2-я — однократно за 30 мин до инъекции той же дозы физиологического раствора. Спленин вводили по 0,25 мл на 100 г массы тела животного. Параллельно с пробой, определяющей роль спленина в высвобождении гистамина из тучных клеток, в пересеченной активности тучных клеток в 48/80 (доза 0,5 мкг/мл). Высвобождение гистамина в порции инкубированной крови определяли по количеству высвободившегося медиатора.

Результаты

Результаты проведенных экспериментов показали, что введение спленина в тучные клетки приводит к высвобождению гистамина, разведенного физиологическим раствором, что свидетельствует о снижении активности тучных клеток, содержащегося в одной порции в таких клетках.