

7. Тринчер К. С. Теплообразовательная функция и щелочность реакции легочной ткани.— М.: Изд-во АН СССР, 1960.—52 с.
8. Холден Дж. С., Пристли Дж. Г. Дыхание.— М.; Л.: Биомедгиз, 1937.—464 с.
9. Albers C. Respiratory drive in hyperthermia // Acid-base homeostasis brain extra-cellular fluid and respiratory controlling system.— Stuttgart, 1976.— P. 112—120.
10. Iscoe S. Pulmonary stretch receptor discharge patterns in eupnea, hypercapnia and hypoxia.— J. Appl. Physiol.: Respir. Environ. Exercise Physiol.— 1982.—53, N 2.— P. 346—354.
11. Mascrey M., Hales R. S., Faurett A. A. Effect of a constant arterial CO₂ tension on respiratory pattern in heat-stressed sheep // J. Appl. Physiol.: Respir. Environ. Exercise Physiol.— 1981.—50, N 2.— P. 315—319.
12. Siggaard-Andersen O. Definitions of acid-base quantities: terminology, symbols and units // U. S. Der. Com. Nat. Bur. Stand. Spec. Publ.— 1977.—450, N 1.— P. 1.

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

Поступила 26.10.87

УДК 616.36—092.9:612.017.1

Изменение кооперации Т- и В-лимфоцитов при иммунном ответе на эритроциты барана на фоне поражения печени четыреххлористым углеродом

Т. М. Брызгина

Данные литературы свидетельствуют о том, что токсические и инфекционные агенты, являющиеся основными этиологическими факторами острых и хронических форм большинства заболеваний печени, реализуют свое патогенное действие через иммунологические механизмы [3—5]. При этом патогенез различных форм токсических поражений печени рассматривается с позиций токсико-иммунологических изменений, при которых токсический компонент выступает как пусковой [8]. За последние 10 лет появились данные, указывающие на обязательные сдвиги иммунного ответа при токсическом поражении печени [8]. Однако есть данные, свидетельствующие как об усилении продукции антител в эксперименте при токсическом поражении печени четыреххлористым углеродом (CCl₄) в ответ на введение различных антигенов [11, 14—16], так и об угнетении антителогенеза на эритроциты барана (ЭБ) при поражении печени CCl₄ [10]. Установлены изменения в отдельных звеньях иммунного ответа в условиях введения CCl₄. Показано, что содержание Т-лимфоцитов в селезенке и лимфоузлах (после введения CCl₄ животным) уменьшается, а содержание В-лимфоцитов не изменяется или, при уменьшении дозы CCl₄, увеличивается [1]. При поражении печени CCl₄ снижается функциональная активность лимфоцитов крови в реакции бласттрансформации на фитогемагглютинин [7], угнетаются реакции замедленного типа (по результатам реакции торможения миграции макрофагов и лейкоцитов в ответ на введение БЦЖ) [9].

Целью наших исследований явилось изучение влияния гепатотропного ядра CCl₄ на одно из конечных звеньев антителогенеза — кооперацию Т- и В-лимфоцитов в иммунном ответе на ЭБ.

Методика

Исследования проведены на 250 мышах линии СВА обоего пола массой 18—28 г. Четыреххлористый углерод животным вводили под кожу трехкратно (по 0,05—0,06 мл 50 %-ного масляного раствора на каждые 10 г массы тела). Интервал между введениями составлял 2 сут. Кооперативный эффект Т- и В-лимфоцитов изучали в условиях адоптивного переноса культуры клеток *in vivo* и учитывали по накоплению антителообразующих клеток (АОК) в селезенке животных-реципиентов при иммунизации последних ЭБ [2, 13]. В качестве источника Т-лимфоцитов использовали клетки тимус-

са (Т-клетки), В-лимфоцитов — клетки костного мозга (КМ). Иммунологическую реактивность мышей-реципиентов подавляли циклофосфаном (производство Саранского завода медпрепаратов), который вводили внутривенно из расчета 0,24 мг на 10 г массы тела. Через 4—5 ч после введения циклофосфана животным внутривенно вводили тимоциты ($3,5 \cdot 10^7$ кл) или клетки костного мозга ($1,5 \cdot 10^7$) или их смесь, или клетки селезенки ($5 \cdot 10^7$) в смеси с ЭБ ($2,5 \cdot 10^8$). На 5-е сутки в селезенке мышей-реципиентов определяли содержание АОК методом локального гемолиза в геле [17] в

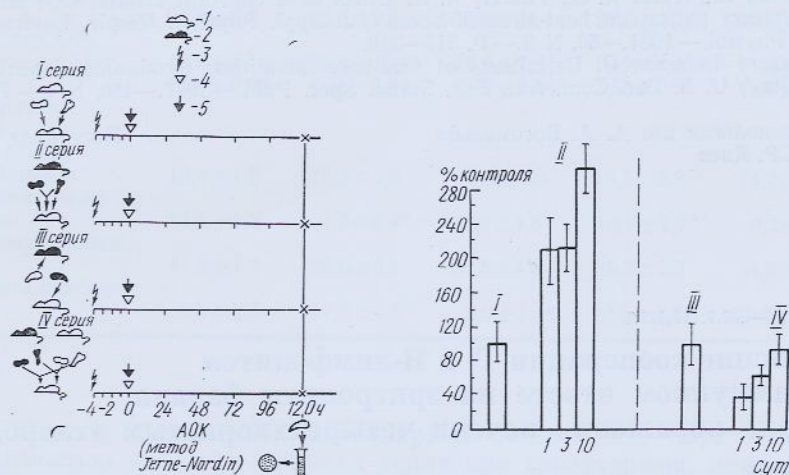


Рис. 1. Схема опыта по изучению кооперации Т- и В-лимфоцитов в системе адоптивного переноса у мышей:

1 — контроль; 2 — введение CCl_4 ; 3 — момент введения циклофосфана; 4 — момент введения эритроцитов барана; 5 — момент введения Т-, В-лимфоцитов или их смеси.

Рис. 2. Относительное число (% контроля) АОК в селезенке мышей-реципиентов при раздельном введении клеток тимуса (Т) и костного мозга (КМ), полученных от доноров, которым вводили CCl_4 :

I — введение Т-клеток, полученных от интактных доноров (контроль); II — введение Т-клеток, полученных от доноров, которым вводили CCl_4 ; III — введение КМ-клеток от интактных доноров; IV — введение КМ-клеток, полученных от доноров, которым вводили CCl_4 .

модификации Певницкого и соавт. [12]. В качестве геля использовали 1 %-ный раствор агарозы для электрофореза марки «Merck» или 0,8 %-ный раствор агарозы марки «Bio ged». Для изучения влияния CCl_4 на кооперацию Т- и В-лимфоцитов селезенки опыты проводили в двух вариантах. В первом варианте CCl_4 вводили донорам клеток, во втором — реципиентам.

На рис. 1 представлена схема проведенных опытов. В первой серии (контрольной) — тимоциты и клетки КМ от интактных доноров трансплантировали реципиентам раздельно или вместе; во второй серии — клетки переносили в тех же комбинациях, но от доноров, которым вводили CCl_4 ; в третьей серии — трансплантировали клетки селезенки от доноров, которым вводили CCl_4 , и от интактных доноров реципиентам, которым вводили CCl_4 ; в четвертой серии — реципиентам переносили смесь клеток тимуса и КМ в следующих комбинациях: а) Т-клетки от интактных доноров и КМ-клетки от доноров, которым вводили CCl_4 , б) Т-клетки доноров, которым вводили CCl_4 , и КМ-клетки от интактных доноров. Трансплантацию клеток производили через 1, 3 и 10 сут после последнего введения CCl_4 донорам или реципиентам. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием критерия t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что в результате введения мышам циклофосфана отменялся иммунный ответ на ЭБ. Число АОК в селезенке контрольных животных, иммунизированных ЭБ, составляло 23814 ± 2130 , а у мышей, получавших предварительно циклофосфан, — 23 ± 6 . Раздельное введение тимоцитов и клеток КМ мышам с подавленной циклофосфаном иммунологической реактивностью не приводило к заметному увеличению накопления антителопродукторов в селезенке (при переносе тимоцитов число АОК на селезенку составляло $15,9 \pm 3,6$; при переносе клеток

КМ — $70,2 \pm 17,1$). Однако в случае совместного переноса этих клеток число АОК составило 670 ± 115 на селезенку, что в 8 раз превышало результат простого суммирования показателей раздельного переноса клеток и свидетельствовало о кооперативном взаимодействии Т- и В-лимфоцитов.

В опытах с введением CCl_4 донорам клеток (II серия исследований, рис. 2) отмечалось следующее. В селезенке мышей-реципиентов, получавших только тимоциты от доноров, которым вводили CCl_4 (T_{CCl_4}), число АОК (во все сроки исследования) увеличивалось в 2–3 раза

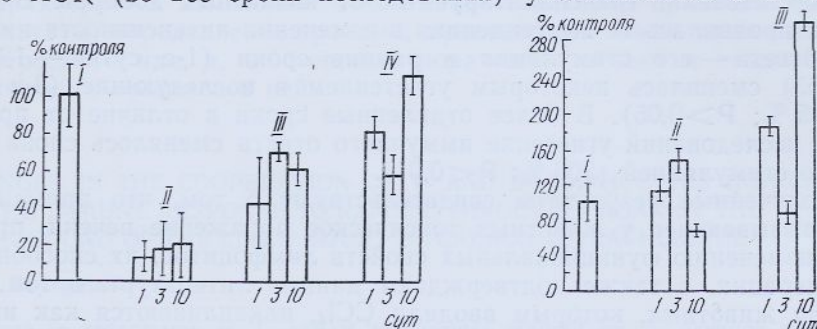


Рис. 3. Относительное число (% контроля) АОК в селезенке мышей-реципиентов при введении им смеси клеток тимуса (Т) и костного мозга (КМ):

I — Т- и КМ-клетки получены от интактных доноров (контроль); II — Т- и КМ-клетки получены от доноров, которым вводили CCl_4 ; III — Т-клетки получены от интактных доноров, КМ-клетки — от доноров, которым вводили CCl_4 ; IV — Т-клетки получены от доноров, которым вводили CCl_4 , КМ-клетки — от интактных доноров.

Рис. 4. Относительное число АОК (% контроля) в селезенке мышей-реципиентов при переносе им спленоцитов:

I — полученных от интактных доноров (контроль); II — полученных от доноров, обработанных CCl_4 ; III — полученных от интактных доноров мышам-реципиентам, обработанным CCl_4 .

($P \geq 0,05$) по сравнению с опытами, в которых реципиенту вводили тимоциты, полученные от интактных доноров. Перенос же только клеток КМ от животных, которым вводили CCl_4 (KM_{CCl_4}), вызывал на 1-е сутки исследования значимое ($P < 0,05$) уменьшение накопления АОК в селезенке животных по сравнению с переносом КМ-клеток от интактных доноров ($\text{KM}_{\text{ин}}$), а на 10-е сутки число АОК в селезенке почти не отличалось от значений, полученных при переносе клеток КМ от интактных животных ($\text{KM}_{\text{CCl}_4} = 67,8 \pm 11,5$ и $\text{KM}_{\text{ин}} = 70,2 \pm 17,1$). При инъекции смеси таких клеток ($\text{T}_{\text{CCl}_4} + \text{KM}_{\text{CCl}_4}$) во все сроки исследования отмечалось достоверное ($P < 0,01$) снижение накопления антителопродукторов в селезенке животных по сравнению с трансплантацией аналогичной смеси клеток от интактных доноров (рис. 3, II).

Таким образом, в наших условиях эксперимента, применение CCl_4 донорам клеток оказывает разнонаправленное влияние на функциональную активность Т- и В-лимфоцитов, при этом усиливается продукция АОК при переносе только тимоцитов (во все сроки исследования) и несколько снижается в ранние сроки исследования при переносе клеток КМ. Значительное снижение иммунного ответа в случае совместного переноса таких клеток, по сравнению с интактными, очевидно, отражает нарушение эффекта взаимодействия клеток.

В следующей серии опытов (III серия) исследовали влияние CCl_4 на способность клеток селезенки восстанавливать иммунный ответ у реципиентов с подавленной циклофосфаном иммунологической реактивностью. Трансплантация клеток селезенки (Т- и В-клеток), полученных от доноров, которым вводили CCl_4 , обеспечивает значительно большее накопление антителопродукторов (рис. 4), при этом обнаруживается зависимость степени восстановления иммунного ответа от сроков изъятия клеток селезенки у этих доноров. Клетки селезенки, изъятые у доноров на 1-е и 3-и сутки после последнего введения CCl_4 восстанавливали иммунный ответ в большей степени, чем клетки, полученные от интактных доноров (115 и 151 % соответственно). Различия в этих группах при наличии больших индивидуальных колебаний приб-

лижались к статистически достоверным. Спленоциты, изъятые на 10-е сутки восстанавливали иммунный ответ значительно слабее (68 %), чем интактные ($P < 0,05$) и клетки, изъятые у доноров в более ранние сроки после окончания введения CCl_4 ($P < 0,01$).

В дальнейших исследованиях действию CCl_4 подвергались не доноры клеток селезенки, а реципиенты. Это давало возможность проследить влияние токсического поражения печени непосредственно на процесс кооперации Т- и В-лимфоцитов, содержащихся в суспензии клеток селезенки, трансплантируемых от интактных доноров. В этих опытах проявилась та же тенденция в изменении интенсивности иммунного ответа — его стимуляция в ранние сроки (1-е сутки — 187 %; $P < 0,05$) сменялась некоторым угнетением в последующие (3-и сутки — 85 %; $P > 0,05$). В более отдаленные сроки в отличие от предыдущих исследований угнетение иммунного ответа сменялось снова резкой его стимуляцией (306 %; $P < 0,01$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение CCl_4 , вызывающее у животных токсическое поражение печени, приводит к изменению функциональных свойств лимфоцитов, их способности к кооперации, а также подтверждают данные литературы о том, что в крови животных, которым вводили CCl_4 , накапливаются как иммуностимулирующие, так и иммуносупрессорные факторы и динамика соотношения этих факторов, по-видимому, определяет динамику иммунологической реактивности животных [11].

Для выяснения вопроса, на какую именно популяцию лимфоцитов (Т- или В-) применение CCl_4 оказывает более выраженное влияние, были проведены следующие эксперименты (IV серия исследований, см. рис. 3), в которых CCl_4 вводили мышам-донорам либо только тимоцитов, либо только клеток КМ. В I группе животных, где трансплантировали смесь тимоцитов, полученных от интактных доноров, и клеток КМ, полученных от доноров, которым вводили CCl_4 , в ранние сроки исследования (1-е сутки) накопление антителопродукторов в селезенке реципиентов достоверно ($P < 0,01$) снижалось по сравнению с контролем (смесь $T_{ин}$ и $KM_{ин}$). В последующие сроки исследования (3-и и 10-е сутки) отмечалась тенденция к восстановлению иммунного ответа (относительное число АОК возрастало до 60—69 %). Во II группе животных этой серии, которым инъецировали смесь тимоцитов доноров, обработанных CCl_4 , и клеток КМ интактных доноров угнетение иммунного ответа было менее выражено: в ранние сроки исследования относительное число антителопродукторов в селезенке достигало 80 % контрольных (смесь $T_{ин}$ и $KM_{ин}$) и почти в 2 раза превышало показатели предыдущей группы (42 %). В последующие 3-и сутки исследования не наблюдалось избирательного влияния CCl_4 на популяции Т- и В-лимфоцитов. Достоверных различий между показателями I и II групп не было. В более отдаленные сроки (10-е сутки) отмечалась некоторая стимуляция иммунного ответа (111 %) по сравнению со всеми исследуемыми группами животных (смесь $T_{ин}$ и $KM_{ин}$, $P > 0,05$; смесь T_{CCl_4} и KM_{CCl_4} , $P < 0,01$; смесь $T_{ин}$ и KM_{CCl_4} , $P < 0,01$).

Приведенные результаты свидетельствуют о том, что применение CCl_4 оказывает более выраженное угнетающее влияние на функциональную активность В-клеток особенно в ранние сроки после применения яда, что проявляется в уменьшении их способности кооперироваться с Т-клетками при иммунном ответе на ЭБ. Не исключено, что некоторый стимулирующий эффект на антителогенез в случае применения CCl_4 к донорам Т-клеток связан с угнетающим его действием на популяцию Т-супрессоров.

Таким образом, применение CCl_4 оказывает существенное влияние на формирование иммунного ответа в одном из конечных его звеньев — кооперации Т- и В-лимфоцитов. При этом меняются функциональные свойства этих популяций клеток и страдает сам процесс их взаимодействия. Четыреххлористый углерод является «прямым» гепатотоксиком и широко используется в экспериментах в качестве классичес-

кого гепатотропного агента [6]. Он оказывает токсическое действие продуктами своего метаболизма (CCl_3' и CCl'). Метаболизм же CCl_4 происходит исключительно в печени. Поэтому изменение иммунного ответа при введении CCl_4 в значительной степени можно связать с токсическим поражением печени. Механизм изменения иммунного ответа, по-видимому, в какой-то мере связан с возможным влиянием пораженной печени на созревание иммунокомпетентных клеток и на формирование их функциональной активности в организме животных. А характер этих изменений, о чем свидетельствуют приведенные выше результаты, определяется сроками, прошедшими после применения гепатотропного яда, т. е. степенью поражения печени и стадией патологического процесса в ней.

CHANGES IN THE COOPERATION OF T- AND B-LYMPHOCYTES INDUCED BY THE IMMUNE RESPONSE TO RAM ERYTHROCYTES AGAINST THE BACKGROUND OF THE LIVER INJURY BY CARBON TETRACHLORIDE

T. M. Bryzgina

Changes in cooperation of T- and B-lymphocytes induced by the immune response to the ram erythrocytes under conditions of liver injury by CCl_4 in donors of cells or recipients have been studied on CBA line mice in the adaptive transfer system. It is stated that application of CCl_4 induces changes in functional properties of T- and B-lymphocytes and process of their cooperation. The pattern of these changes is determined by periods passed after application of the hepatotropic poison, e. i. by the degree of the liver injury and by the stage of the pathological process in it. Application of CCl_4 exerts more pronounced inhibiting effect on B-lymphocytes than on T-lymphocytes.

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

1. Алексеева И. Н., Тимошенко Ю. Г. Содержание розеткообразующих клеток в селезенке и тимусе крыс при различном функциональном состоянии печени // Физиол. журн.— 1979.—25, № 6.— С. 699—704.
2. Арипов У. А., Арустамов Д. Л., Хаитов Р. М. Клеточные основы иммунного ответа и иммунодепрессии.— Ташкент: Медицина, 1976.—198 с.
3. Блюгер А. Ф., Векслер Х. М. Вирусно-иммунологическая концепция в гепатологии // Иммунология в клинической практике.— Рига, 1976.— С. 5—26.
4. Блюгер А. Ф., Векслер Х. М., Новицкий И. Н. Клиническая иммунология кишечных инфекций.— Рига: Звайгне, 1980.—214 с.
5. Блюгер А. Ф., Векслер Х. М., Чарная Р. Н. и др. Иммунологические проблемы в гепатологии // Одиннадцатый съезд терапевтов УССР: Тез. докл.— Харьков, 1982.— С. 49—50.
6. Блюгер А. Ф., Новицкий И. Н. Практическая гепатология.— Рига: Звайгне, 1984.— 405 с.
7. Брызгина Т. М., Мартынова Т. В. Изменение активности бласттрансформации лимфоцитов крови крыс в условиях экспериментальных воздействий на печень // Физиол. журн.— 1985.—31, № 3.— С. 278—282.
8. Векслер Х. М. Нарушение иммунной системы при заболеваниях печени и пищеварительного тракта // Система иммунитета при заболеваниях внутренних органов.— Киев: Здоров'я, 1985.— С. 228—255.
9. Галенко Т. И., Арефьева Л. В. Действие четыреххлористого углерода и антигепатотоксической сыворотки на иммунный ответ у крыс // Физиол. журн.— 1984.—30, № 4.— С. 459—463.
10. Ильевич Н. В., Алексеева И. Н., Брызгина Т. М., Галенко Т. И. Иммунологическая реактивность организма в условиях экспериментальных воздействий на печень // Иммунология.— 1984.— № 5.— С. 65—67.
11. Кедровская Н. Н. Эндогенные иммуностимулирующие факторы при токсическом поражении печени: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Киев, 1983.—24 с.
12. Певницкий А. А., Соловьев В. В., Фонталин Л. Н. Исследование действия оснований нуклеиновых кислот на иммуногенез методом Эрне // Бюл. эксперим. биологии.— 1965.—68, № 8.— С. 85—89.
13. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Манько В. М., Михайлова А. А. Контроль и регуляция иммунного ответа.— Л.: Медицина, 1981.—307 с.
14. Прокопенко Л. Г., Кедровская Н. Н. Гуморальные факторы стимуляции иммуногенеза при токсическом поражении печени // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.— 1976.— № 6.— С. 57—62.