

8. Згржебловська В. Н., Бладдзевич О. Н. Зміна деяких показників білкової функції печінки під впливом спленину // Фізіол. журн.— 1964.— № 10.— С. 121—122.
9. Згржебловская В. Н., Бладдзевич А. А. Влияние спленина на содержание билирубина и активность альдолазы в сыворотке крови при болезни Боткина // Врачеб. дело.— № 10.— С. 132—134.
10. Корпачев В. В., Шевченко А. В. Влияние спленина на токсичность плазмы крови облученных животных // Эндокринология.— Киев: Здоров'я, 1987.— С. 84—87.
11. Кравченко И. А., Кишко А. М. Лечение спленином в сочетании с далагилем больных болезнью Боткина // Врачеб. дело.— 1976.— № 3.— С. 123—125.
12. Кузьминых М. П. Холнэстераза сыворотки крови при заболеваниях печени // Казан. мед. журн.— 1960.— № 1.— С. 26—28.
13. Олейник Б. В. Влияние спленина на обмен и экскрецию бромсульфоталейна и секрецию желчи у крыс с токсическим гепатитом // Физиол. журн.— 1978.— № 1.— С. 52—56.
14. Покровский А. А. Использование ферментативных реакций в клинике с диагностическими целями // Актуальные вопросы современной биохимии.— М.: Медицина, 1962.— Т. 2.— С. 230.
15. Шевченко А. В., Олейник Б. В. Влияние спленина на очищение крови от бромсульфоталейна при экспериментальном токсическом гепатите // Вопросы эндокринологии и обмена веществ.— 1970.— Вып. 1.— С. 75—77.
16. Шевченко А. В. О механизме детоксикационного действия спленина // Регуляция вегетативных функций.— Киев: Наук. думка, 1965.— С. 245—247.
17. Hestir S. The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxylamine, and its analytical application // J. Biol. Chem.— 1949.— 180, N 1.— P. 249—261.

Киев. ин-т эндокринологии и обмена веществ
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил в редакцию
22.02.88

УДК 612.017.1

К. П. Лященко, С. А. Бобровник, Т. А. Голованова

Закономерности формирования иммунологической памяти к корпускулярному антигену стафилококка

Характерной особенностью иммунитета, формирующегося в результате вакцинации соматическими антигенами стафилококка или при стафилококковых инфекциях, являются его непродолжительность и недостаточная напряженность [1]. Причины этого пока не ясны. В то же время недостаточно исследованы закономерности формирования иммунологической памяти к антигенам стафилококка, а, как известно, этот феномен лежит в основе приобретенного иммунитета ко многим инфекциям [9].

Ранее нами показано, что корпускулярный антиген стафилококка (КАС) способен индуцировать иммунологическую память у мышей [4]. Способность к ревакцинационной реакции можно сообщить интактным [5] или облученным [6] животным путем трансплантации клеток селезенки предварительно иммунизированных сингенных доноров, что позволяет установить некоторые закономерности развития иммунологической памяти к КАС в системе адоптивного переноса.

Цель настоящей работы — изучение формирования и реализации иммунологической памяти к стафилококку в условиях повторной иммунизации мышей. Исследована зависимость иммунологической памяти от примиряющей дозы КАС, генотипа животных, наличия тимуса в их организме, а также показано участие костного мозга в продукции антител в процессе вторичного иммунного ответа.

Методика

Опыты проведены на мышах линии СВА, СЗН, BAL B/c и A/Sp массой 16—20 г, полученных из питомников лабораторных животных «Столбовая» и «Рапполово» АМН СССР, а также на генетически бестимусных мышах nude, выведенных на основе

BALB/c, любезно предоставленных доктором медицинских наук Е. С. Ревазовой (ВОНЦ АМН СССР). Приготовление КАС описано ранее [3]. Мышей иммунизировали внутривенным введением взвеси КАС в 0,5 мл физиологического раствора ($5 \cdot 10^5$ — $5 \cdot 10^9$ микробных тел стафилококка) однократно или двукратно с интервалом 2—4 нед. Гуморальный иммунный ответ на КАС у мышей оценивали по содержанию сывороточных агглютининов и числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке (на 4-е сутки после иммунизации животных) и костном мозгу бедренных костей (в различные сроки после иммунизации животных). АОК, специфичные в КАС, обнаруживали с помощью метода иммуофлюоресцентных отпечатков [3]. Число АОК, выявляемых в костномозговой ткани бедренных костей, пересчитывали на костный мозг в целом [12]. Полученный цифровой материал обрабатывали статистически с учетом критерия t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Исследования, проведенные на мышах линии СВА, показали, что с увеличением примирующей дозы КАС закономерно повышается иммунологическая память (рис. 1). Следует отметить, что при изучении закономерностей адаптивного переноса иммунологической памяти к стафилококку интактным и облученным сингенным реципиентам [5, 6] нами выявлена такая же по характеру дозовая зависимость. Таким образом, для формирования В-клеток памяти, специфичных к КАС, более эффективными являются сравнительно большие дозы антигена, а не субоптимальные, как это наблюдается при иммунизации мышей эритроцитами барана [10].

Предыдущими исследованиями установлено, что мыши линии СЗН — высокоотвечающие на КАС, а мыши линии А/Sp — низкоотвечающие [4]. Дальнейшее изучение этого вопроса показало, что межлинейные различия антителообразования у мышей оппозитно реагирующих генотипов еще более выражены после повторной иммунизации стафилококком (табл. 1). Если у мышей низкоотвечающей линии выраженность анамнестической реакции превышала уровень первичного ответа в 4—5 раз, то реиммунизация мышей генетически обусловленной высокой отвечаемостью на КАС приводила к увеличению числа АОК в селезенке более чем на порядок по сравнению с таковым при однократном введении антигена. Вследствие этого оппозитность реагирования на КАС после вторичной иммунизации мышей выражалась 40—60-кратными различиями между линиями СЗН и А/Sp по числу АОК в селезенке. По-видимому, генетическому контролю подчиняется не только первичный иммунный ответ, но и иммунологическая память.

Следует отметить, что наши данные о межлинейных различиях вторичного иммунного ответа на КАС у мышей не согласуются с результатами аналогичных исследований с другими антигенами. Показано, что генетически детерминированные различия образования антител к эритроцитам барана существенно уменьшались после вторичной и нивелировались после третьей иммунизации мышей [7], а повторное введение животным лептоспирозного антигена или некоторых анатоксинов приводило к полному исчезновению межлинейных различий в результате значительного возрастания числа антител у низкореагирующих линий мышей при относительно слабом его увеличении у животных высокоотвечающих линий [8].

В опытах на генетически бестимусных мышах линии BALB/c изучали зависимость индукции гуморального иммунного ответа и формирования иммунологической памяти к КАС от Т-системы иммунитета. Как видно из табл. 2, однократное внутривенное введение $5 \cdot 10^9$ микробных тел стафилококка таким мышам приводило к появлению АОК в их селезенках, однако в значительно меньших количествах, чем у фенотипически нормальных мышей той же линии. Вместе с тем после реиммунизации бестимусных мышей наблюдалась выраженная анамнестическая реакция: число АОК, специфичных к КАС, в их селезенке в 88 раз превышало таковое у однократно иммунизированных животных, тогда

как у мышей контрольной группы — только в 9 раз. Однако по абсолютному значению вторичного иммунного ответа на стафилококк бес-тимусные мыши все же значительно уступали нормальным животным.

Приведенные материалы свидетельствуют, что в бактериальной клетке стафилококка превалируют Т-зависимые антигены. В то же время формирование иммунологической памяти к КАС, по-видимому, возможно и у лишенных тимуса животных, однако для ее реализации в процессе вторичного иммунного ответа необходимы Т-лимфоциты.

В литературе имеются противоречивые сведения о способности лишенных тимуса животных отвечать на антигены образованием антител по вторичному типу. Повторное введение врожденно атимическим мышам эритроцитов барана не приводило к развитию типичной анамнестической реакции [14], тогда

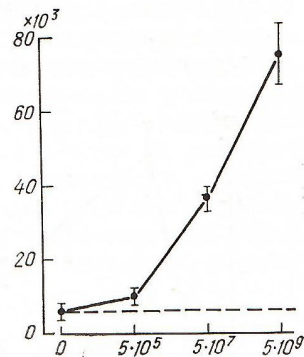


Рис. 1. Зависимость формирования иммунологической памяти к КАС у мышей линии СВА от дозы антигена. По оси абсцисс — примиряющая доза КАС, по оси ординат — число АОК в селезенке; здесь и на остальных рисунках прерывистая линия — уровень первичного ответа (контроль).

как сывороточные антитела к гемоцианину улитки или полимеризованному флагеллину выявлялись только после вторичной иммунизации таких животных этими антигенами [13].

Следует отметить, что результаты наших экспериментов согласуются с данными других исследователей о неодинаковой степени тимусзависимости первичного и вторичного иммунных ответов [15] и перераспределении различных субпопуляций Т-лимфоцитов в лимфоидных тканях при развитии стафилококковой инфекции [2], а также подтверждают принципиальную возможность индукции В-клеток памяти в условиях Т-иммунодефицита [13].

Таблица 1. Иммунный ответ на КАС у оппозитно реагирующих линий мышей ($M \pm m$)

Показатель	СЗН		А/Sp	
	Первичный ответ	Вторичный ответ	Первичный ответ	Вторичный ответ
Число АОК в селезенке	$16\,300 \pm 6\,297$	$180\,000 \pm 34\,641$ $P < 0,01$	840 ± 147	$3\,280 \pm 845$ $P < 0,05$
на 10^6 кариоцитов селезенки	$57,3 \pm 16,1$	$722,8 \pm 21,1$ $P < 0,001$	$4,9 \pm 1,4$	$20,5 \pm 6,2$ $P < 0,05$
Титр антител, $-\log_2$	$4,90 \pm 0,06$	$8,55 \pm 0,33$ $P < 0,001$	$4,15 \pm 0,22$	$6,76 \pm 0,23$ $P < 0,001$

Примечание. Здесь и в табл. 2 число животных в каждой группе составляет 6.

В последние 10 лет, с тех пор как было установлено важное значение костного мозга в продукции иммуноглобулинов и антител к различным антигенам, особенно при многократных иммунизациях человека и некоторых животных [11, 12], возрос интерес к изучению антителообразования непосредственно в костномозговой ткани с целью выяснения роли этого органа в реализации иммунологической памяти. Результаты наших исследований по этому вопросу показали, что костный мозг мышей практически не отвечает на однократное введение КАС, однако активно включается в антителогенез после повторной антигенной стимуляции (рис. 2). Если первичная иммунизация мышей ($5 \cdot 10^9$ микробных тел стафилококка) сопровождалась всего лишь незначительным превы-

шением фонового числа АОК в костномозговой ткани — (850 ± 184) АОК на весь орган, или $(3,6 \pm 0,5)$ АОК на 10^6 кариоцитов, — то реиммунизация таких животных через месяц вызвала заметное накопление антителопродукторов в костном мозгу с максимумом реакции на 5-е сутки — (3673 ± 571) АОК на весь орган, или $(20,5 \pm 3,7)$ АОК на 10^6 кариоцитов.

Интересным и целесообразным представлялось количественно оценить долевое участие костного мозга в системном иммунном ответе, а также сопоставить изменение числа АОК в костномозговой ткани с таковым в селезенке, изученным нами ранее [4]. С этой целью было определено процентное отношение общего числа АОК, обнаруженных в

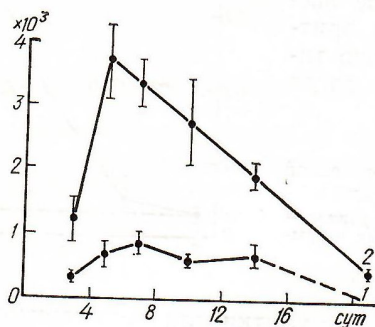


Рис. 2. Динамика числа АОК, специфичных к КАС, в костном мозгу однократно (1) и двукратно (2) иммунизированных мышей.
По оси абсцисс — время после иммунизации, по оси ординат — число АОК в костном мозгу.

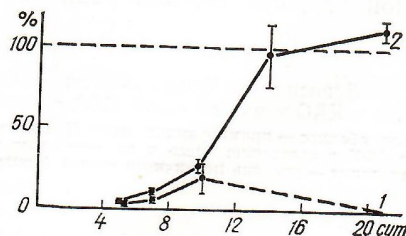


Рис. 3. Динамика долевого участия костного мозга в первичном (1) и вторичном (2) иммунных ответах на КАС у мышей.
По оси абсцисс — время после иммунизации, по оси ординат — отношение общего числа АОК в костном мозгу к таковому в селезенке.

костном мозгу, к их числу, одновременно выявляемому в селезенке (основном антителообразующем органе при внутривенной инъекции антигена). Как следует из рис. 3, на пике системной иммунной реакции этот показатель был минимальным — $(3,1 \pm 0,4)$ и $(2,8 \pm 0,2)$ % соответственно после первичной и повторной иммунизаций. Однако на поздних стадиях вторичного иммунного ответа (через 2—3 нед после реиммунизации), в отличие от первичного, интенсивность антителообразования в костном мозгу, судя по числу АОК, достигала таковой в селезенке тех же мышей. Характер динамики продукции антител к КАС в костномозговой ткани реиммунизированных животных позволяет предположить, что костный мозг в отличие от селезенки участвует в обеспечении длительного поддержания определенного количества сывороточных антител во время анамнестической реакции организма.

Как известно, содержание АОК, специфичных к разным антигенам, в костном мозгу животных и человека увеличивается с возрастом [12].

Таблица 2. Иммунный ответ на КАС у мышей BALB/c-nude и фенотипически нормальных мышей линии BALB/c

Мыши	Число АОК в селезенке		P_{3-4}	Титр антител, $-\log_2$		P_{3-4}
	Первичный ответ (3)	Вторичный ответ (4)		Первичный ответ (3)	Вторичный ответ (4)	
Бестимусные (1)	$186 \times 1,45$	$16444 \times 1,74$	$<0,001$	$4,25 \pm 0,25$	$5,74 \pm 0,24$	$<0,01$
Нормальные (2)	$32359 \times 1,55$	$283139 \times 1,17$	$<0,01$	$6,00 \pm 0,29$	$8,74 \pm 0,42$	$<0,01$
P_{1-2}	$<0,001$	$<0,001$		$<0,01$	$<0,001$	

Примечание. Результаты представлены в средних геометрических.

Вероятно, в онтогенезе иммунная система все больше антигенных стимулов воспринимает повторно и, следовательно, преобладающим становится иммунный ответ по вторичному типу, включающий усиленную продукцию антител в костном мозгу. Таким образом, долевое участие последнего в гуморальном иммунитете возрастает при старении организма, что отражает его адаптацию к антигенному окружению.

На основании представленных результатов можно заключить, что формирование иммунологической памяти к КАС, подчиняясь в основном общеиммунологическим закономерностям, характеризуется вместе с тем отличительными особенностями, которые связаны, по-видимому, с природой антигена и касаются прежде всего генетического контроля иммунореактивности к стафилококку и участия Т-лимфоцитов в индукции В-клеток памяти, а также изученного нами ранее [5] адаптивного переноса иммунологической памяти к КАС интактным сингенным реципиентам. В системной анамнестической реакции на стафилококк у мышей наряду с периферическими лимфоидными органами участвует костный мозг, что, вероятно, обусловлено репопуляцией костномозговой ткани иммунизированных животных рециркулирующими клетками иммунологической памяти.

REGULARITIES OF FORMATION OF THE IMMUNOLOGICAL MEMORY TO PARTICULATE STAPHYLOCOCCAL ANTIGEN

K. P. Lyashchenko, S. A. Bobrovnik, T. A. Golovanova

The experiments carried out on inbred mice have revealed that the level of the immunological memory to staphylococci depends on the intensity of the antigenic stimulation; high priming dose of antigen proving to be the most effective one. The opposite character of immune responsiveness observed during primary antibody response to particulate staphylococcal antigen in C3H and A/Sn mice increased after the second immunization. It is established that immunological memory to staphylococci may be induced in genetically athymic mice. Many antibody-forming cells are found in the bone marrow of the secondary immunized mice. This phenomenon may be due to the repopulation of the bone marrow tissue by recirculating memory cells.

Institute of Physiology of T. G. Shevchenko University, Ministry of Higher and Secondary Special Education of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акатов А. К., Зуева В. С. Стафилококки.— М.: Медицина, 1983.— 256 с.
2. Белоцкий С. М. Иммунология хирургических инфекций.— М.: Медицина, 1980.— 104 с.
3. Бобровник С. А. Метод обнаружения антителообразующих клеток, специфичных к корпускулярным бактериальным антигенам // Иммунология.— 1983.— № 5.— С. 91—92.
4. Бобровник С. А., Лященко К. П. Иммунный ответ и формирование иммунологической памяти на стафилококк у мышей различных генотипов // Журн. микробиол.— 1985.— № 6.— С. 64—68.
5. Бобровник С. А., Лященко К. П. Основные закономерности адаптивного переноса иммунологической памяти к стафилококку интактным реципиентам // Физиол. журн.— 1986.— 32, № 4.— С. 485—488.
6. Лященко К. П., Голованова Т. А., Бобровник С. А. Изучение иммунологической памяти на стафилококк методом адаптивного переноса // Журн. микробиол.— 1986.— № 10.— С. 93—95.
7. Пантелеев Э. И., Егорова О. С. Генетическая детерминированность антителогенеза // Общие вопросы патологии. Итоги науки и техники.— М., 1972.— Т. 3.— С. 44—48.
8. Петров Р. В., Хаитов Р. М., Манько В. М., Михайлова А. А. Контроль и регуляция иммунного ответа.— Л.: Медицина, 1981.— 312 с.
9. Покровский В. И., Авербах М. М., Литвинов В. И., Рубцов И. В. Приобретенный иммунитет и инфекционный процесс.— М.: Медицина, 1979.— 280 с.
10. Халатян Н. А., Першин С. Б., Пинегин Б. В. Кинетика формирования иммунологической памяти при иммунизации животных различными дозами антигена // Журн. микробиол.— 1972.— № 4.— С. 128—132.