

УДК 612.017.3:577.158.47

И. М. Исмаилова, Н. К. Бердинских

Активирующее влияние церулоплазмينا на формирование гиперчувствительности замедленного типа у мышей

В комплексном лечении ряда заболеваний, сопровождающихся ослаблением иммунной системы, особое место занимает коррекция иммунного гомеостаза. В настоящее время ведется активный поиск препаратов, способных не только усиливать иммунный ответ, но и избирательно воздействовать на отдельные его звенья. Наибольшая целесообразность подобных исследований может заключаться в изыскании средств, способных активировать или подавлять функцию главных регуляторных клеток — Т-помощников и Т-супрессоров. В связи с этим представляет интерес медьсодержащий белок плазмы крови — церулоплазмин (ЦП), выполняющий в организме различные биохимические функции [1, 2]. В ряде работ показано его иммуномодулирующее влияние на популяцию Т-клеток [6, 7]. Однако подобные исследования немногочисленны, противоречивы и не позволяют сделать конкретного вывода о влиянии ЦП на некоторые реакции клеточного иммунитета.

Цель нашей работы — изучить характер действия ЦП на формирование гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и активность Т-супрессоров интактных животных с физиологическим уровнем иммунологической активности.

Методика

Исследования проведены на мышах линии Balb/c массой 20—22 г разведения вивария ИПО АН УССР. Препарат человеческого ЦП получен на Киевском предприятии бак-препаратов МЗ СССР из отходов производства γ -глобулинов (фракции α -глобулинов и липондов ретроплацентарной крови человека) и имел следующую характеристику: молекулярная масса 12 400 Д, E_{610}/E_{280} составляло 0,035, что соответствовало 90—95 % чистоты препарата.

При постановке реакции локальной адоптивной ГЗТ мышам иммунизировали внутрибрюшинным введением эритроцитов барана (ЭБ) в дозе $1 \cdot 10^6$ [8]. Через 4 сут после иммунизации животных забивали, готовили взвесь спленоцитов и после двукратного отмывания клетки ресуспендировали в среде 199. Приготовленную взвесь спленоцитов, содержащую $4 \cdot 10^6$ клеток, смешивали с равным объемом взвеси ЭБ (50 %) и 0,05 мл смеси вводили в подушечку задней лапки интактных реципиентов (положительный контроль). Отрицательным контролем служили интактные сингенные животные, которым вводили ЭБ и спленоциты, полученные от неиммунизированных мышам. Тестирование реакции проводили через 24 ч взвешиванием стоп опытной и интактной лапок мышам и определением прироста абсолютной (мг) и относительной (%) массы стопы. Для изучения влияния ЦП на формирование ГЗТ подопытным животным внутрибрюшинно за 24 ч до иммунизации вводили препарат в дозах 5 мг и 200 мг на кг массы.

Супрессоры индуцировали внутрибрюшинным введением ЭБ в дозе $6 \cdot 10^6$. Через 5 сут извлекали селезенку, готовили клеточную суспензию и клетки ($1 \cdot 10^6$) переносили интактным сингенным реципиентам. Спустя 1 ч после этого, реципиентов сенсibilizировали внутривенным введением $1 \cdot 10^6$ ЭБ и затем, через 4 сут, определяли ГЗТ

по указанной методике. Супрессорную активность клеток селезенки оценивали относительно (%) супрессией ГЗТ и определяли по следующей формуле:

$$\left[1 - \frac{(\text{масса стопы в опыте}) - (\text{масса стопы в контроле}^-)}{(\text{масса стопы в контроле}^+) - (\text{масса стопы в контроле}^-)} \right] \cdot 100,$$

где контроль⁻ и контроль⁺ — отрицательный и положительный контроли соответственно. Влияние ЦП на супрессоры оценивали в двух сериях опытов: в 1-й серии животным-донорам вводили ЦП за 24 ч до иммунизации, во 2-й — через 5 сут после иммунизации на пике формирования супрессоров ГЗТ.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования показали стимулирующее влияние на формирование ГЗТ церулоплазмينا (5 мг/кг) за сутки до иммунизации животных, что проявлялось в значительном увеличении массы стопы по сравнению с таковой в положительном контроле при введении в подушечку лапы сенсibilизированных лимфоцитов совместно с ЭБ (таблица). Однако увеличение количества вводимого препарата до 200 мг на кг массы не повышало, а подавляло способность организма к формированию эффектов ГЗТ, что проявлялось в ослаблении реакции по сравнению с контролем. Учитывая, что главным регуляторным механизмом, определяющим скорость и уровень формирования реакции, является активность супрессоров, имеющих Т-клеточную природу [3, 4], в последующей серии экспериментов было изучено влияние ЦП на супрессию ГЗТ. Тестирование реакции производили в системе с переносом лимфоцитов животных, получавших большое количество ЭБ, интактным реципиентам.

Влияние ЦП на формирование ГЗТ к ЭБ у мышей линии Balb/c

Группа животных	Число доноров сенсibilизированных лимфоцитов	Число реципиентов, на которых проводилось тестирование реакции	Прирост массы лапок (M±m)	
			мг	%
Отрицательный контроль (доноры клеток интактны)	4	10	42,6±1,16	35,5±0,93
Положительный контроль (доноры клеток сенсibilизированы)	8	12	83,4±3,41	69,5±2,8
Опыт 1 (доноры клеток сенсibilизированы и получали ЦП в дозе 5 мг/кг)	9	14	101±2,25	84,2±1,22
Опыт 2 (доноры клеток сенсibilизированы и получали ЦП в дозе 200 мг/кг)	9	14	74,2±1,34	61,8±1,06

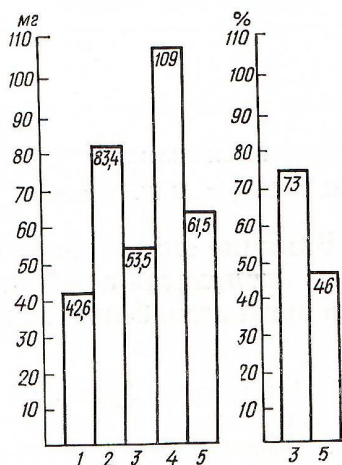
Известно, что в зависимости от дозы антигена и схемы толерогенной обработки свойства появляющихся супрессоров различны: в одних случаях происходит накопление супрессоров, действующих на фазу индукции ГЗТ, в других — на фазу экспрессии. Наши исследования проводились в условиях, позволяющих определить характер влияния ЦП на оба типа супрессорных клеток.

Как свидетельствуют результаты, представленные на рисунке, введение мышам большого количества ксеногенных эритроцитов способствовало накоплению у них в селезенке супрессоров ГЗТ, оказавших при сингенном переносе ингибирующее действие на формирование клеток-эффекторов. Это проявлялось в снижении интенсивности реакции у тестируемых животных по сравнению с таковой в положительном контроле. Предварительное введение ЦП в (5 мг/кг) приводило к уменьшению супрессии и восстанавливало способность реципиентов к формированию ГЗТ. Вместе с тем введение ЦП через 5 сут после

сенсibilизации сопровождалось существенно менее выраженным ослаблением супрессии, которая по своей интенсивности соответствовала уровню при использовании спленоцитов от доноров, которым ЦП не вводили. Следовательно, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что ЦП тормозит индукцию супрессоров ГЗТ и не влияет на экспрессию функциональной активности сформировавшихся супрессоров. Подобное отрицательное влияние ЦП на супрессоры ГЗТ можно рассматривать как одну из возможных причин стимулирующего действия данного препарата на развитие клеточной реакции. Не исключено также, что при введении ЦП увеличивается пул эффекторных клеток, принимающих участие в развитии ГЗТ, за счет вовлечения их предшественников, до этого находившихся в неактивном состоянии. Таким образом, выявленное стимулирующее влияние на

Влияние ЦП на эффективность супрессии (абсолютной, мг и относительной, %) ГЗТ в зависимости от сроков иммунизации доноров:

1 — отрицательный контроль; 2 — положительный контроль; 3 — эффект переноса супрессорных клеток; 4 — эффект переноса супрессорных клеток, полученных от животных, иммунизированных сразу после введения ЦП; 5 — за 5 сут до введения ЦП.



клеточный иммунитет ЦП — типичного сывороточного гликопротеида с мультиферментными свойствами — подтверждает данные литературы за последние 5—10 лет о том, что ЦП является одним из факторов естественной защиты организма [1, 2].

THE STIMULATING EFFECT OF CERULOPLASMIN ON THE DEVELOPMENT OF DELAYED HYPERSENSITIVITY IN MICE

I. M. Ismailova, N. K. Berdinskikh

The influence of ceruloplasmin on the development of delayed hypersensitivity (DHS) and activity of T-suppressors were studied in experiments on intact Balb/c mice. Ceruloplasmin introduced in a dose of 5 mg per 1 kg of weight a day before immunization of animals is shown to have a stimulating effect. The amount of the introduced drug being raised to 200 mg per 1 kg of weight suppressed the ability of organism to form DHS effect rather than increased it. Ceruloplasmin is stated to inhibit induction of DHS suppressors and to exert no effect on the expression of functional activity of the formed suppressors.

R. E. Kavetsky Institute for Oncology Problems,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Погосян Г. Г., Налбандян Р. М. Ингибирование липидной пероксидации супероксид-дисмутазой и церулоплазмином // Биохимия. — 1983. — 48, вып. 7. — С. 1129—1135.
2. Санина О. Л., Бердинских Н. К. Биологическая роль церулоплазмينا и возможности его клинического применения // Вопр. мед. химии. — 1986, № 5. — С. 7—14.
3. Фонталин Л. Н., Черноусов А. Д., Черняховская И. Ю. Генетическая рестрикция взаимодействия эффекторов гиперчувствительности замедленного типа с клетками-супрессорами // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1981. — № 9. — С. 58—61.
4. Черноусов А. Д., Фонталин Л. Н. Изучение супрессии гиперчувствительности замедленного типа у мышей, получивших массивную дозу ксеногенных эритроцитов // Там же. — 1979. — № 12. — С. 693—694.
5. Черноусов А. Д., Аюрин Б. М. Выделение Т-супрессоров, аффинных к антигену, и их взаимодействие с эффекторами гиперчувствительности замедленного типа в различных экспериментальных условиях // Там же. — 1982. — № 1. — С. 13—16.