

Влияние антигениндуцированного супрессорного фактора селезенки на иммунный ответ к различным антигенам

При иммунизации мышей эритроцитами барана (ЭБ) в селезенке активируются супрессорные клетки, ограничивающие иммунный ответ [5, 6]. Активность клеток-супрессоров проявляется в результате того, что они вырабатывают супрессорный фактор (СФ), который можно обнаружить в надосадочной жидкости гомогената клеток селезенки [1, 8]. Свойства СФ во многом недостаточно изучены.

В нашей работе изложены результаты исследования особенностей воздействия СФ, выделенного из селезенки иммунизированных мышей, на первичный и вторичный иммунные ответы к различным антигенам.

Методика

В экспериментах использовали мышей-самок линии СС₅₇W 12—14-недельного возраста. Животные были получены из питомника АМН СССР «Столбовая».

Для получения СФ мышей иммунизировали внутрибрюшинно ЭБ ($5 \cdot 10^8$ клеток). Через 14 сут после иммунизации селезенку этих животных замораживали, гомогенизи-

Таблица 1. Продукция антител у мышей при их иммунизации различными антигенами

Условие опыта	Средний титр антител ($M \pm m$)	
	Первичный ответ	Вторичный ответ
Иммунизация эритроцитами барана (ЭБ) на фоне:		
введения физиологического раствора	$6,5 \pm 0,23$	$10,2 \pm 0,27$
введения препарата селезенки (ПС) неиммуни-		
зированных мышей	$6,3 \pm 0,21$	$10,7 \pm 0,36$
введения ПС иммунизированных ЭБ мышей	$4,8 \pm 0,10^*$	$8,2 \pm 0,30^*$
Иммунизация эритроцитами кролика на фоне:		
введения физиологического раствора	$3,4 \pm 0,29$	$8,1 \pm 0,31$
введения препарата селезенки (ПС) неиммуни-		
зированных мышей	$3,3 \pm 0,25$	$7,7 \pm 0,29$
введения ПС иммунизированных ЭБ мышей	$2,5 \pm 0,15$	$4,8 \pm 0,16^*$
Иммунизация липополисахаридами на фоне:		
введения физиологического раствора	$3,5 \pm 0,24$	$6,3 \pm 0,29$
введения препарата селезенки (ПС) неиммуни-		
зированных мышей	$3,6 \pm 0,29$	$5,9 \pm 0,25$
введения ПС иммунизированных ЭБ мышей	$3,8 \pm 0,13$	$6,5 \pm 0,21$

* Здесь и в табл. 2 достоверное отличие ($P < 0,05$) значений показателей у мышей опытной группы от значений показателей у мышей контрольных групп, которым вместо препарата селезенки (ПС) вводили физиологический раствор, и которым вводили ЛС неиммунизированных мышей (в каждой группе по 11—12 мышей).

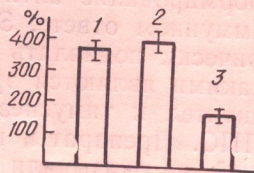
Таблица 2. Гиперчувствительность замедленного типа к спленоцитам морской свиньи (%)

Группа животных	Введение физиологического раствора	неиммунизированных мышей	Введение препарата селезенки (ПС) иммунизированных мышей	
			Супрессорный фактор (СФ) нативный	СФ однократно сорбентом из:
				анти-Ig-сыворотки
I	336 ± 18	332 ± 13	$165 \pm 19^*$	$187 \pm 13^*$
II	298 ± 19	312 ± 21	$144 \pm 18^*$	Нет свед. $139 \pm 14^*$

ровали 5-кратным растиранием в ступке и центрифугировали при 10 000 g в течение 30 мин. Супернатант, содержащий СФ, разводили так, чтобы число ядросодержащих клеток в его 1 мл составляло $2 \cdot 10^5$.

Свойства СФ изучали на модели антительного иммунного ответа организма мышей на иммунизацию эритроцитами кролика (ЭК) и ЭБ ($5 \cdot 10^8$ клеток), а также липополисахаридом (ЛПС) *E. coli* 0-124 (1 мкг). Антигены вводили внутривенно одновременно с введением 0,5 мл СФ. Титры антител в крови определяли с помощью реакции пассивной гемагглютинации и гемагглютинации через 7 сут. Вторичный иммунный

Влияние супрессорного фактора (СФ) на уровень реализации гиперчувствительности замедленного типа (относительная масса подколенного лимфоузла, %) к спленоцитам морской свинки у мышей контрольной группы, которым препарат селезенки не вводили (1), у мышей, которым вводили препарат селезенки неиммунизированных мышей (2) и у мышей, которым вводили препарат селезенки иммунизированных мышей (3).



ответ изучали в опытах на мышах, которых за 3 нед до взятия в опыт иммунизировали ЭБ, ЭК ($5 \cdot 10^7$ клеток) или детоксицированным ЛПС (10 мкг), как описано ранее [3]. Отсутствие антител в крови у таких животных перед опытом контролировали.

Применяли также модель гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), которую вызывали у животных подкожным введением инактивированных спленоцитов морской свинки (СМС; $5 \cdot 10^6$ клеток). Разрешающее введение СМС проводили через 6—7 сут в подушечку задней лапки. Интенсивность реакции оценивали нарастанием массы подколенного лимфоузла [4]. СФ вводили мышам внутривенно одновременно с разрешающей инъекцией СМС.

С целью установления природы СФ применяли его обработку иммуносорбентами из анти- Θ (Thy-1)- и анти-Ig-сыворотки. В работе использовали коммерческую сыворотку против Ig мыши (Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР). Сыворотку против Θ -антигена тимоцитов получали от кроликов, которых иммунизировали введением в подушечки конечностей суспензии серого вещества головного мозга крысы в адьюванте Фрейнда, истощали эритроцитами, тканью печени и клетками костного мозга мышей [2]. Такая сыворотка в разведении 1:20 в цитотоксическом тесте при наличии комплемента убивала 92,7 % клеток тимуса и 3,2 % клеток костного мозга мышей.

Иммуносорбенты готовили обработкой сывороток глутаровым альдегидом. Процедуру истощения СФ сорбентами проводили в пробирках, сорбиравшиеся вещества элюировали глициновым буферным раствором [9].

Титры антител выражали в виде $\log_2 \frac{T}{10}$, где T — обратная величина среднего геометрического титра антител. Уровень ГЗТ оценивали средней арифметической массы подколенного лимфоузла левой и правой задних лапок у иммунизированного животного и выражали в процентах массы лимфоузла лапок у интактного животного. Отличие между средними значениями устанавливали с учетом средних ошибок по критерию t Стьюдента.

Титры антител выражали в виде $\log_2 \frac{T}{10}$, где T — обратная величина среднего геометрического титра антител. Уровень ГЗТ оценивали средней арифметической массы подколенного лимфоузла левой и правой задних лапок у иммунизированного животного и выражали в процентах массы лимфоузла лапок у интактного животного. Отличие между средними значениями устанавливали с учетом средних ошибок по критерию t Стьюдента.

Титры антител выражали в виде $\log_2 \frac{T}{10}$, где T — обратная величина среднего геометрического титра антител. Уровень ГЗТ оценивали средней арифметической массы подколенного лимфоузла левой и правой задних лапок у иммунизированного животного и выражали в процентах массы лимфоузла лапок у интактного животного. Отличие между средними значениями устанавливали с учетом средних ошибок по критерию t Стьюдента.

Экспериментальная группа	Исходный сорбентом, получен из:	СФ трехкратнoистощенный сорбентом, полученным из		Элюат сорбента из	
		анти-Ig-сыворотки	анти- Θ (Thy-1)-сыворотки	анти-Ig-сыворотки	анти- Θ (Thy-1)-сыворотки
1. Мыши (% на фоне введения различных препаратов селезенки)	анти- Θ (Thy-1)-сыворотки	353±29	Нет свед.	174±14*	Нет свед.
2. Мыши (% на фоне введения различных препаратов селезенки)	анти-Ig-сыворотки	Нет свед.	155±23*	Нет свед.	299±25

Результаты и их обсуждение

Из опытов по иммунизации мышей ЭБ следует, что СФ ингибирует формирование антител к ЭБ и при первичном, и при вторичном иммунных ответах (табл. 1). Введение мышам препарата селезенки (ПС) иммунизированных ЭБ мышей существенно угнетало продукцию антител к ЭК при вторичном иммунном ответе. Отмечено снижение титров антител к ЭК и при первичном иммунном ответе, однако оно было незначительным. Наряду с этим обнаружено, что СФ никак не влиял на формирование антител к ЛПС ни при первичном, ни при вторичном иммунном ответе. Эти факты показывают, что СФ способен неспецифически подавлять продукцию антител к тимусзависимым антигенам, какими являются эритроциты, не оказывая влияния на формирование антител к тимуснезависимым антигенам, например, к бактериальным ЛПС. Препараты, полученные из селезенки неиммунизированных мышей, не оказывали влияния на антителообразование. Это было продемонстрировано в опытах с использованием ЭБ, ЭК и ЛПС на модели первичного и вторичного иммунных ответов.

Уровень ГЗТ у мышей, которым вводили СФ, оказался значительно ниже, чем у животных контрольных групп, которым вводили препарат селезенки неиммунизированных мышей, и которым препараты селезенки не вводили (рисунков). Подавление клеточного иммунного ответа наряду с подавлением тимусзависимого антительного ответа свидетельствует о том, что объектом действия СФ является Т-клеточное звено иммунной системы.

Обработка СФ иммуносорбентом из анти- Θ -сыворотки не снижала его активности. Препарат по-прежнему ингибировал ГЗТ и после однократного, и после трехкратного истощения иммуносорбентом. При этом элюат иммуносорбента не обладал иммуносупрессорной активностью (табл. 2). Иные результаты получены при обработке СФ иммуносорбентом из анти-Ig-сыворотки. Хотя однократное истощение иммуносорбентом никак не влияло на активность СФ по отношению к ГЗТ, однако после трехкратного истощения активность СФ полностью устранялась. Элюаты такого сорбента всегда подавляли ГЗТ. Результаты этих опытов указывают на иммуноглобулиновую природу СФ, на вероятность его В-лимфоцитарного происхождения.

Возможно, что СФ является продуктом В-супрессоров. Об этом свидетельствует не только отношение его к иммуноглобулинам, но и сходство иммуносупрессорных свойств со свойствами В-супрессоров [5, 6]. В последнее время появились данные о сходстве структуры рецепторов В-супрессоров со структурой Fc-фрагментов IgG. В этом плане представляет интерес тот факт, что свойства СФ совпадают с иммуносупрессорными свойствами Fc-фрагментов [8].

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что супрессорный фактор селезенки мышей, иммунизированных эритроцитами барана, неспецифически подавляет тимусзависимый иммунный ответ и имеет иммуноглобулиновую природу.

V. A. Borisov

THE INFLUENCE OF ANTIGEN-INDUCED SUPPRESSOR FACTOR OF SPLEEN ON IMMUNE RESPONSE TO VARIOUS ANTIGENS

Quick-frozen spleen of mice immunized with sheep red blood cepps was homogenized and centrifuged. Supernatant was used as a source of suppressor factor (SF). It was shown that SF inhibited antibody immune response to thymus-dependent antigens and delayed hypersensitivity reaction. SF did not inhibit antibody formation to thymus-independent antigen. SF activity disappeared after its treatment with anti-Ig immunosorbent.

L. V. Gromashevsky Research Institute of Epidemiology and Infectious Diseases, Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алейник Д. Я., Писарев В. М. Антигеннеспецифическая супрессия формирования иммунологической памяти к чужеродным эритроцитам // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1983.— 96, № 11.— С. 70—71.
2. Богданова И. М., Сухих Г. Т., Малайцев В. В. Электрофоретическая подвижность клеток, опосредующих спонтанную противоопухолевую цитотоксичность у мыши // Иммунология.— 1982.— № 1.— С. 21—23.
3. Борисов В. А., Фролов А. Ф. Неспецифический характер подавления антителообразования вирулентными шигеллами Зонне // Микробиол. журн.— 1982.— 44, № 1.— С. 71—76.
4. Гюллинг Э. В., Самбур М. Б. Способ воспроизведения гиперчувствительности замедленного типа *in vivo* // Физиол. журн.— 1981.— № 2.— С. 237—239.
5. Калинин А. Г., Луганская Е. Л., Пинегин Б. В. Некоторые свойства антигениндуцированных В-супрессоров // Иммунология.— 1984.— № 2.— С. 21—24.
6. Калинин А. Г., Луганская Е. Л., Пинегин Б. В. Влияние антигенспецифических В-супрессоров на развитие В-клеток памяти, специфичных к носителю Т-хелперов и антителообразующих клеток // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1986.— 102, № 7.— С. 58—60.
7. Кульберг А. Я. Иммуноглобулины как биологические регуляторы.— М.: Медицина, 1975.— 200 с.
8. Писарев В. М., Стукалов С. В., Певницкий Л. А. Свойства антигенспецифического супрессорного фактора иммунных клеток селезенки // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1980.— 90, № 11.— С. 586—588.
9. Avrameas S., Ternynck T. The cross-linking of proteins with glutaraldehyde and its use for the preparation of immunoadsorbents // Immunochemistry.— 1969.— 6, N 1.— P. 53—66.

Киев. науч.-исслед. ин-т эпидемиологии
и инфекционных болезней им. Л. В. Громашевского
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил
в редакцию 22.03.88

УДК 612.3+612.4

С. Д. Гройсман, А. А. Фишер, В. И. Гельвих,
С. И. Швыдченко, О. А. Шевченко, С. В. Казакова

Сравнительный анализ эффекта клофелина на секреторную функцию желудка у человека и собаки

Роль симпатической нервной системы и катехоламинов в регуляции секреции, моторики и трофики желудка в эксперименте и клинике изучена недостаточно, полученные данные во многом противоречивы [10, 11, 12, 13, 15]. Показано [9, 13, 15], что торможение многих функций желудка и кишечника осуществляется посредством активации α_2 -адренорецепторов. Данная концепция основана главным образом на эффекте клофелина как агонисте преимущественно α_2 -рецепторов. Клофелин, стимулируя пресинаптические α_2 -адренорецепторы в центральной нервной системе, блокирует высвобождение из нейронов норадреналина, что в свою очередь обуславливает брадикардию, снижение сердечного выброса и периферического сосудистого сопротивления [1, 2, 6]. В связи с этим возникает вопрос: «Не приводит ли вызываемое клофелином выключение центрального симпатического влияния к доминированию парасимпатической активности, одним из последствий которой может быть усиление секреторной функции желудка?». Вместе с тем, Гребнев [3], Шептулин [8] рекомендуют этот препарат для лечения больных с сочетанием у них язвенной и гипертонической болезней. Данные, полученные за последнее десятилетие, указывают на наличие периферических постсинаптических α_2 -адренорецепторов, в частности α_2 -адренорецепторов органов желудочно-кишечного тракта [1, 6, 12]. Поэтому выяснение влияния клофелина на секреторную функцию желудка интересно в теоретическом (роль и характер центральной и перифериче-