

1. Бергер Э. Н., Файфура В. В., Довгало Ю. П., Шугалей Ю. С. Влияние резерпина на холинэстеразу крови и сердца крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1973.— 74, № 2.— С. 49—51.
2. Меерсон Ф. З., Дмитриева Т. М. Влияние гиперфункции сердца на реализацию отрицательно-хронотропного эффекта блуждающего нерва // Докл. АН СССР.— 1962.— 145, № 5.— С. 1184—1187.
3. Мотовилова Т. П. Влияние резерпина на моторную функцию желудочно-кишечного тракта // Фармакология и токсикология.— 1964.— 27, № 5.— С. 528—530.
4. Файфура В. В. Сердечно-тормозные эффекты ацетилхолина у крыс с экспериментальным тиреотоксикозом и гипотиреозом в условиях резерпинизации // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1977.— № 4.— С. 74—76.
5. Чекман И. С. Механизмы действия антиадренергических средств // Фармакология и токсикология. Респ. межвед. сб.— Вып. 9.— Киев: Здоров'я, 1974.— С. 62—67.
6. Malpica J. F., Jurupe H., Campos H. A. Actions of reserpine and tyramine on the acetylcholine content of brain stem, heart and blood of the rat // Arch. int. pharmacodyn. et ther.— 1970.— 185, N 1.— P. 13—19.
7. Mandell A. J., Knapp S. The effects of chronic administration of some cholinergic and adrenergic drugs on the activity of choline acetyltransferase in the optic lobes of the shick brain // Neuropharmacology.— 1971.— 10, N 4.— P. 513—516.
8. Oesch F., Thoenen H. Increased activity of the peripheral sympathetic nervous system: induction of choline acetyltransferase in the preganglionic cholinergic neurone // Nature.— 1973.— 242, N 5399.— P. 536—537.
9. Tuček S. The distribution of choline acetylase in the cardiac auricles of rats, rabbits, cats and guinea-pigs // Physiol. bohemosi.— 1964.— 13, fasc. 1.— P. 39—47.
10. Vlk J., Tuček S. Distribution of acetylcholine in the auricles of the mammalian heart // Ibid.— 1961.— 10, fasc. 1.— P. 65—71.

Тернопол. мед. ін-т М-ва
охорони здоров'я УРСР

Матеріал надійшов
до редакції 02.10.89

УДК 577.1.08.+576.382.32

Г. В. Пинчук, Л. Н. Пинчук

Изучение влияния связывания антигенной детерминанты тетродотоксинчувствительного белка на пролиферативный ответ моноклеарных клеток селезенки мыши, индуцируемый фитогемагглютинином

Антигенная детерминанта ИФБ-4, идентифицируемая одноименными моноклональными антителами к тетродотоксинчувствительному белку, выделенному из ткани головного мозга млекопитающих, очищенному с помощью электрофореза и проявляющему свойства тетродотоксинчувствительного натриевого канала при встраивании в липосомы [1, 2, 8], была обнаружена на лимфоцитах человека [9] и грызунов [3, 4]. Моноклональные антитела ИФБ-4 оказывали выраженное митогенное действие на моноклеарные клетки млекопитающих в культуре [3, 4, 9] и модифицировали эффекты экзогенного интерлейкина-2 [3]. Это послужило основанием для предположения, что структура лимфоцитарной поверхности, обладающая антигенным родством с тетродотоксинчувствительным белком, вовлечена в механизм активации иммунокомпетентных клеток.

Известно, что связывание антителами некоторых мембранных белков, имеющих отношение к активации лимфоцитов, в частности, Т-клеточного антигенраспознающего рецептора и ассоциированного с ним кластера белков СДЗ [7] и рецептора интерлейкина-2 [6], приводит к угнетению пролиферативного ответа на лектиновые митогены. Задачей настоящей работы было установить, влияет ли связывание антигенной детерминанты ИФБ-4 на пролиферативный ответ, индуцируемый в культуре моноклеарных клеток мыши фитогемагглютинином (ФГА).

Методика

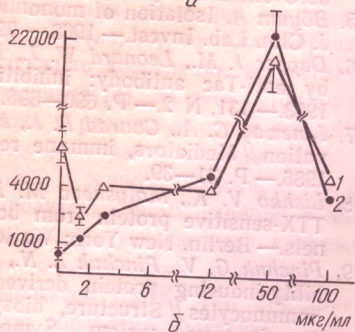
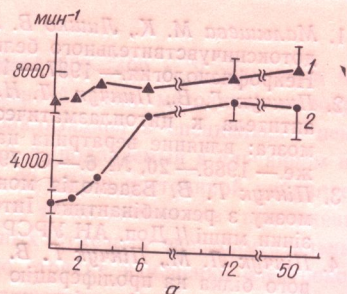
Мононуклеарные клетки (МНК) получали из селезенки мышей линии СВА (возраст 8–16 нед) центрифугированием в градиенте плотности фиколла и верографина [5]. В опытах использовали также МНК, освобожденные от моноцитов инкубацией на пластиковой поверхности [10]. Культивирование клеток в среде, содержащей антитела ИФБ-4 либо контрольные иммуноглобулины (иммуноглобулиновую фракцию сыворотки крови интактных мышей), осуществляли в условиях, не отличавшихся от описанных ранее [3, 4]. Период культивирования составлял 72 ч. В культуры добавляли разное количество ФГА (препарат марки «РНА-М», фирмы «Calbiochem», США). Интенсивность пролиферации оценивали по включению ^3H -тимидина (ВО «Изотоп», СССР), который вводили в среду за 16 ч до окончания культивирования в таком количестве, чтобы его активность составляла $3,7 \cdot 10^4$ Бк на $2 \cdot 10^5$ клеток. Для оценки включения изотопа использовали жидкостный сцинтилляционный счетчик «RackBeta» (фирма «ILKB», Швеция).

Результаты и их обсуждение

Как видно из рисунка, а антитела ИФБ-4 (0,5 мкг белка иммуноглобулиновой фракции в 1 мл) не влияли на пролиферативный ответ, индуцируемый ФГА в культуре МНК. Однако субмитогенная доза ФГА (1,5 мкг/мл) достоверно ($P < 0,05$) ослабляла собственный митогенный эффект антител ИФБ-4. Как видно из рисунка, б антитела ИФБ-4 не влияли и на слабый пролиферативный ответ МНК, индуцируемый ФГА после удаления из культуры клеток моноцитов. В этих условиях собственный митогенный эффект антител ИФБ-4 не модифицировался лектина.

Результаты, аналогичные представленным на рис. 1 и 2, были получены при введении в культуральную среду антител ИФБ-4 в концентрациях 0,1; 3,0 и 50 мкг/мл (на рисунке не показано).

Таким образом, моноклональные антитела ИФБ-4, обладая митогенным действием без ФГА, не способны модифицировать митогенный эффект данного лектина. Митогенное действие антител



Зависимость интенсивности пролиферации (по результатам включения ^3H -тимидина в клетку) мононуклеарных клеток селезенки, содержащих (а) и не содержащих (б) моноциты, от концентрации фитогемагглютинаина (средние данные трех независимых экспериментов):

1 — при добавлении антител ИФБ-4 (0,5 мкг/мл) в культуральную среду; 2 — при добавлении контрольных иммуноглобулинов.

ИФБ-4 существенно угнетается ФГА в его субмитогенной концентрации при наличии в культуре МНК моноцитов и в меньшей мере, чем митогенное действие ФГА, зависит от наличия моноцитов (сравните рисунки, а и б). Эти особенности не характерны для моноклональных антител, направленных к Т-клеточному рецептору антигена и к ассоциированным с данным рецептором структурам, принимающим участие в антигенном распознавании. Не обладают подобными свойствами и антитела к рецептору интерлейкина-2 [6, 7, 10]. На основании этого можно предположить, что лимфоцитарный антигенный гомолог тетродоксинчувствительного белка головного мозга не идентичен указанным структурам и вовлечен в альтернативные пути активации лимфоцитов. Для более точного представления об этих механизмах необхо-

димы биохимическая идентификация лимфоцитарного гомолога тетродотоксинчувствительного белка и характеристика экспрессирующей данную структуру субпопуляции лимфоцитов.

G. V. Pinchuk, L. N. Pinchuk

STUDIES IN THE INFLUENCE OF ANTIGENIC
DETERMINENTS OF TETRODOTOXIN-SENSITIVE PROTEIN
ON THE PROLIFERATIVE RESPONSE OF MONONUCLEAR CELLS
OF MOUSE SPLEEN INDUCED BY PHYTOHEMAGGLUTININ

Mammalian brain-derived «tetrodotoxin-sensitive protein» has been shown to share an epitope with as yet unidentified structure of the human and rodent lymphocyte surface. Previously obtained observations that a monoclonal antibody to this epitope induces a proliferative response of murine splenic mononuclear cells are confirmed. However, this antibody fails to modify the phytohemagglutinin-induced response. Moreover, lectin with submitogenic concentration inhibited the antibody-induced response provided that monocytes were present in the culture. The antibody-induced proliferation appeared to be less monocyte-dependent than the lectin-induced one. Taken together, these findings argue against hypothesis that a lymphocyte structure with epitope of the «tetrodotoxin-sensitive protein» is associated with either T cell receptor for antigen or interleukin-2 receptor.

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Малышева М. К., Лишко В. К., Жукарева В. А. и др. Очистка растворимого тетродотоксинчувствительного белка из ткани головного мозга крупного рогатого скота // Нейрофизиология.— 1987.— 19, № 2.— С. 202—209.
2. Пинчук Г. В., Пинчук Л. Н., Герасименко О. В., Клеринг П. Г. Моноклональные антитела к цитоплазматическому тетродотоксинчувствительному белку головного мозга: влияние вератрина на связывание антител с клетками нейробластомы // Там же.— 1988.— 20, № 6.— С. 794—800.
3. Пинчук Г. В. Взаємодія моноклональних антитіл до тетродотоксинчутливого білка мозку з рекомбінантним Інтерлейкіном-2 у культурах моноклеарних клітин селезінки миші // Доп. АН УРСР.— Сер. Б.— 1989.— № 6.— С. 67—69.
4. Пинчук Л. М., Пинчук Г. В. Вплив моноклональних антитіл до тетродотоксинчутливого білка на проліферацію лімфоцитів у культурі // Там же.— № 1.— С. 77—80.
5. Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood // Scand. J. Clin. Lab. Invest.— 1968.— 99 (Suppl. 27).— P. 71—81.
6. Depper J. M., Leonard W. J., Robb R. J. et al. Blockade of the interleukin-2 receptor by anti-Tac antibody: inhibition of human lymphocyte activation // J. Immunol.— 1983.— 131, N 2.— P. 690—696.
7. Janeway C. A., Conrad P. J., Horowitz J. B. et al. Steps in the process of T cell activation // Mediators, immune regulation and immunotherapy.— New York etc.: Wiley, 1986.— P. 31—39.
8. Lishko V. K., Malysheva M. K., Zhukareva V. A. Purification and properties of the TTX-sensitive protein from bovine brain soluble fraction // Receptors and ion channels.— Berlin, New York: Walter de Gruyter and Co., 1987.— P. 187—193.
9. Pinchuk G. V., Pinchuk L. N., Gerasymenko O. V., Nikolayenko L. M. Sodium-permeability-inducing protein derived from brain cells has its homologues expressed on immunocytes // Structure, biosynthesis and functions of the molecular elements of the immune system. Symposium. June 2—4, 1987.— Pushchino (Abstracts).— Pushchino, 1987.— P. 10.
10. Stingl L. A., Sinska A., Landesmann U., Smolen J. S. Induction of interleukin-2 responsiveness and proliferation in resting peripheral T cells by monoclonal anti-CD3 (T3) antibodies does not require the presence of macrophages // Clin. and Exp. Immunol.— 1987.— 68, N 1.— P. 146—155.

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

Материал поступил
в редакцию 31.10.89