

Влияние возраста реципиента на эффект трансплантации лимфоидных органов новорожденных доноров

Известно, что при создании гетерохронных химер, т. е. живых систем, состоящих из элементов разного возраста, доминирующими являются признаки, характерные для более поздних этапов онтогенеза. Такое доминирование наблюдалось при изучении эмбрионального развития [5]. Нами показано, что оно сохраняется и на поздних этапах онтогенеза. Так, в гетерохронной парабиотической паре система иммунитета [1], соединительная ткань [9], кроветворение [11], печень [13] и яичники [4] молодого партнера проявляют выраженные изменения, характерные для старого животного, в то время как «омолаживающее» влияние молодого организма на старый весьма незначительно или его вообще нет. Создается впечатление, что старый организм представляет собой источник сильных подавляющих влияний, распространяющих свое действие на широкий круг функциональных систем и органов.

С этой точки зрения нами изучается система иммунитета. В поисках источника супрессорных влияний были применены методы удаления или пересадок различных органов, парциальное или тотальное рентгеновское облучение. Показано, что тотальное общее облучение организма старого партнера по парабиозу значительно снижает его подавляющее влияние на молодой организм [2]. В то же время вклад различных лимфоидных органов неодинаков. Кроветворные клетки костного мозга вообще способны ревертировать свои возрастные изменения [7], пересаженная старая селезенка дает значительно более выраженный эффект [3]. Пожалуй, в наибольшей мере супрессорное действие проявляется при пересадке старого тимуса [8], стромальные клетки которого вырабатывают какие-то подавляющие иммунный ответ вещества даже в системе *in vitro* [10]. Заслуживает внимания время наибольшего проявления этой супрессорной активности, которое, по результатам наших исследований, в тимусе мышей линии СВА соответствует возрасту, близкому к 20 мес [8].

Цель нашей работы — дальнейшее изучение роли тимуса и его взаимодействия с организмом в нарушениях иммунитета при старении, особенностей взаимодействия тимуса с лимфоидными популяциями периферических органов, для чего предложена новая экспериментальная модель одновременной пересадки вилочковой железы и селезенки под капсулу почки.

Методика

Мыши линии СВА получены из питомника АМН СССР «Столбовая». Старение мышей происходило в условиях питомника Института геронтологии АМН СССР. Селезенку и тимус (одну долю) из организма мышат через 24–48 ч после рождения пересаживали под капсулу почки реципиентам 4–5-, 12–14- и 21–22-месячного возраста. Через 3 мес после операции производили гистологическое исследование пересаженных тимуса и селезенки, а также определяли число ядросодержащих клеток и относительное число прямых антителообразующих клеток (ПАОК) в селезенке донора и реципиента по методу Эрне и Нордина.

Результаты

Гистологическое исследование трансплантатов тимуса и селезенки показало их регенерацию, в частности восстановление их типичной струк-

© Г. М. БУТЕНКО, А. И. ХАРАЗИ, И. Н. ПИШЕЛЬ, 1990.

A black and white micrograph showing a histological section. On the left side, there is a large, dark, and somewhat amorphous mass, possibly representing a tumor or a large area of necrosis. This mass is labeled with the letter 'B'. To the right of this mass, the tissue appears more structured, with visible cellular details and some circular or oval shapes that could be glandular or ductal structures. The overall texture is grainy, typical of a photomicrograph.

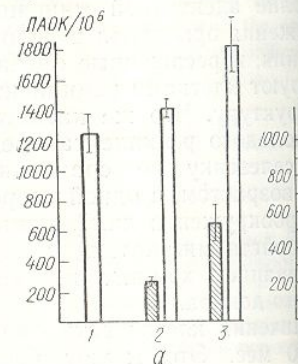
трансплантированного органа) или системный (макроокружение организма).

Число ядросодержащих клеток в селезенке мышей линии СВА в норме и через 3 мес после трансплантации им тимуса и селезенки 2-суточных доноров на 4-е сутки после иммунизации эритроцитами барана, $\times 5 \cdot 10^6$

Вариант опыта	Возраст		
	8 мес	15 мес	23 мес
Интактные животные	34,8±2,3	48,2±2,5	42,9±3,3
После трансплантации селезенки			
в собственной	47,5±8,4	50,3±15,8	35,4±7,9
в пересаженной	7,0±0,7	5,7±0,7	12,8±2,4
После трансплантации тимуса и селезенки			
в собственной	34,8±4,2	35,7±1,5	40,8±6,8
в пересаженной	5,2±1,7	4,0±0	12,7±1,7

28

При изучении взаимоотношений селезенки и тимуса в опытах по пересадке тимуса отрицательная корреляция, (от $r = -0,89$ у 4—5-месячных крыс). Этот факт может указывать на то, что тимус (хонинг) клетками молодого тимуса по сравнению с пересаженными



1 — интактные животные; 2 — живые; 3 — животные с пересаженными *столками* — иммунный ответ в соответствие в пересаженной селезенке. По ядерным клеткам селезенки (ПАОК/10⁶) барана. В каждой экспериментальной серии.

Иммунный ответ (число 4—5-месячным мышам, по которым значительно уступает числу) быть связано с гетеротопии преимущественным заселением трансплантация тимуса при му иммунный ответ эффект чем донорской — в несколько

В 16-месячном возрасте лезенке донора через 3 месяца не отличается от такового, однако обращает на себя внимание ответа селезенки донора пересадкой тимуса, которая достоверной в случае пересадки тимуса (рис. 2, в). Следует отметить, что в опытах без донора у животных значительно

Одним из ключевых вопросов является выбор адекватной модели, вносящих вклад в результат. В случае особенно важно, изолированно, а во взаимодействии с другими факторами.

Физиол. журн., 1990, т. 36, №

При изучении взаимозависимости ЧЯСК донорской и хозяйской селезенки в опытах по пересадке селезенки без тимуса доказана их отрицательная корреляция, значение которой уменьшается с возрастом (от $r = -0,89$ у 4—5-месячных животных до $r = -0,027$ у 22-месячных). Этот факт может указывать на некоторое предпочтительное заселение (хоминг) клетками молодого реципиента его собственной селезенки по сравнению с пересаженной селезенкой новорожденных. При допол-

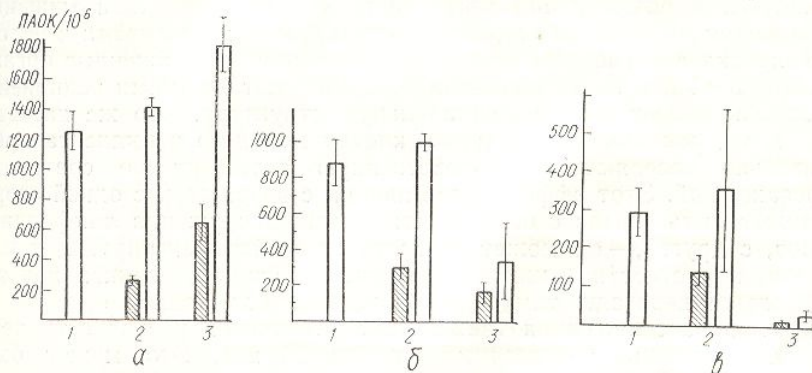


Рис. 2. Иммунный ответ 8- (а), 15- (б) и 25- (в) месячных мышей линии СВА в норме и при трансплантации им лимфоидных органов 2-суточных доноров через 3 мес после операции:

1 — интактные животные; 2 — животные с пересаженной селезенкой 2-суточных доноров; 3 — животные с пересаженными тимусом и селезенкой 2-суточных доноров. Светлые столбики — иммунный ответ в собственной селезенке реципиента, заштрихованные — иммунный ответ в пересаженной селезенке. По вертикали — число прямых антителлообразующих клеток в 10^6 ядерных клеток селезенки (ПАОК/10⁶) на 4-е сутки после иммунизации животных 10^8 эритроцитами барана. В каждой экспериментальной группе от 5 до 7 животных; вертикальные черточки — ошибки средних.

нительной пересадке тимуса не обнаружено зависимости заселения селезенки реципиента от возраста реципиента. В связи с этим можно предположить, что пересаженный тимус нивелирует это предпочтительное заселение путем образования клеток, пассируемых через пересаженный тимус новорожденных.

Иммунный ответ (число ПАОК) в селезенке при ее пересадке 4—5-месячным мышам показан на рис. 2, а. Как видно из рисунка, он значительно уступает числу ПАОК в селезенке реципиента, что может быть связано с гетеротопным положением органа и с указанным выше преимущественным заселением хозяйской селезенки. Дополнительная трансплантация тимуса приводит к явно выраженному стимулирующему иммунный ответ эффекту и донорской, и хозяйской селезенки, причем донорской — в несколько большей мере.

В 16-месячном возрасте реципиента (рис. 2, б) число ПАОК в селезенке донора через 3 мес после трансплантации практически ничем не отличается от такового при пересадке 5-месячным животным. Однако обращает на себя внимание тенденция к угнетению иммунного ответа селезенки донора и реципиента в опытах с дополнительной пересадкой тимуса, которая становится еще более выраженной и достоверной в случае пересадки тимуса и селезенки 22-месячным мышам (рис. 2, в). Следует отметить, что иммунный ответ донорской селезенки в опытах без дополнительной трансплантации тимуса старым животным значительно больше, чем в опытах с пересадкой тимуса.

Обсуждение

Одним из ключевых вопросов современной иммуногеронтологии является выбор адекватной модели для анализа влияния различных факторов, вносящих вклад в изменения иммунитета при старении. В этом случае особенно важно добиться, чтобы эти факторы изучали не изолированно, а во взаимодействии, максимально приближенном к естественному взаимодействию в организме стареющего животного.

и 5-месяч-
15. Ок. 10.

ние ор-

исследо-
ниента
органов
лезенке
зависит
течается
лезенки,
денных
их влия-
органов.

ез 3 мес
ки после

3 мес

9±3,3

4±7,9

8±2,4

8±6,8

7±1,7

отных.

36, № 5

В приведенной работе мы попытались использовать для этой цели модель гетеротопной трансплантации лимфоидных органов новорожденных животных. Этот выбор был сделан на основании двух соображений. Во-первых, органы новорожденного животного обладают максимальными потенциальными возможностями роста, что позволяет оценить автономный компонент развития (и старения) системы иммунитета (если таковой имеется). Во-вторых, этим органам еще предстоит развиваться и поэтому они могут быть вполне адекватной мишенью для изучения влияний со стороны макроокружения организма в целом.

Как показали гистологические исследования, пересаженные органы в течение 3—4 нед после операции репопулируют клетками реципиента и восстанавливают свою первоначальную структуру. Что же касается хоминга, то, довольно неожиданно, клетки молодого реципиента предпочтительно заселяют свою собственную селезенку по сравнению с пересаженной. Этот эффект, исчезающий с возрастом, с одной стороны, может быть связан с особенностями микроокружения лимфоидных органов, с другой, — он может зависеть от свойств мигрирующих клеток, что, в частности, доказывается выравниванием хоминга при дополнительной пересадке тимуса новорожденного донора.

Заслуживает внимания также факт увеличения клеточности пересаженной селезенки у животных старше 20 мес. Это может быть связано, с одной стороны, со снижением хоминга в собственную селезенку реципиента, а с другой, — нарушением контроля роста и развития органов в старом организме. Вряд ли стоит здесь говорить об иммунном конфликте (по типу реакции трансплантации против хозяина), ибо нет никакого увеличения клеточности в селезенке реципиента.

Главный вывод из полученных результатов состоит в том, что созревание иммунных потенциалов в пересаженной селезенке новорожденного животного в основном зависит от возраста организма-хозяина. Именно в период между 18 и 20 мес обнаруживается резкое (после относительного «плато») угнетение численности ПАОК в селезенке донора. Следует, однако, заметить, что это снижение (в 2 раза) не так драматично, как снижение иммунного ответа с возрастом в селезенке реципиента (в 4 раза), что позволяет предположить некоторый положительный эффект «молодого» микроокружения.

При попытке восстановить иммунный ответ в пересаженной в старый организм селезенке с помощью дополнительной трансплантации тимуса получено, наоборот, угнетение иммунных потенциалов и донорской, и хозяйской селезенки. В то же время при пересадке тимуса и селезенки в молодой организм получена стимуляция иммунного ответа в обеих селезенках. Отсюда можно прийти к заключению, что создаваемые таким образом химерные сочетания лимфоидных органов функционируют как одно целое (одна система), находясь под влиянием макроокружения организма хозяина и подчиняясь при этом тем регуляторным сигналам (стимулирующим или ингибирующим), которые от него исходят.

Это положение важно по следующей причине. Согласно так называемой иммунологической теории старения, старческие изменения в организме являются следствием первичных нарушений в системе иммунитета [14]. В связи с этим возникает большой соблазн путем восстановления пострадавшей иммунной системы воспрепятствовать старению организма. Из нашей работы следует, что в пожилом возрасте эта задача представляется сомнительной. Если полагать, что изменения иммунной системы и макроокружения в онтогенезе взаимосвязаны, то «иммунологический путь» замедления темпов старения нужно начинать с довольно молодого возраста. Аналогичный результат был получен Хирокава [6] на модели множественной пересадки тимуса. Однако следует подчеркнуть, что значительные возможности манипуляций на системе иммунитета оставляют шанс на результативные попытки восстановления иммунитета в старческом возрасте.

G. M. Butenko, A. I. Kharazi, I.

EFFECT OF THE RECIPIENT OF LYMPHOID ORGANS IN NE

The development of immunology under the kidney capsule of different animals appear to depend strongly upon development occurs. Thereat the gradually decreasing with the recipient is obtained. These data indicate factors both in maturation of the

Institute of Gerontology,
Academy of Medical Sciences of

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутенко Г. М., Губрий И. В. Возраст // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1985.
2. Бутенко Г. М., Губрий И. В. Парабиоз животных разного возраста // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1985.
3. Губрий И. В. Первичный иммунный ответ при различных донорах и реципиентах // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1985.
4. Губрий И. В., Резников А. В. Ритмичность циклической активности лимфоидных органов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1985.
5. Дюкар Э. Клеточные взаимодействия // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1985.
6. Хирокава К. Тимус и старение (ежегодник «Геронтология»). — 1985.
7. Butenko G. M., Andrianova L. F. Ageing // Arch. Biol. — 1985.
8. Butenko G. M., Kharazi A. Immunologic system formation in ageing // Arch. Biol. — 1985.
9. Hlavachkova J. V., Hruza Z. Ring ageing and parabiosis // Arch. Biol. — 1985.
10. Sato K., Chang M.-P., Makino S. T. Different cells to produce factors // Cell. Immunol. — 1984.
11. Sidorenko A. V., Gubrii I. V. Lymphohemopoietic system in ageing // Arch. Biol. — 1985.
12. Stutman O. Intrathymic and extrathymic factors // Mech. Ageing Dev. — 1984.
13. Tauchi H., Sato T. Change in immune response of old and young rats // Mech. Ageing Dev. — 1984.
14. Walford R. L. The immunological system // Mech. Ageing Dev. — 1984.

Ин-т геронтологии АМН СССР
Киев

УДК 612.119.017.11:576.5

Л. Ф. Андрианова

Пролиферативные и дифференциальные свойства стволовых кроветворных клеток у мышей линии СВА

Основные признаки, характеризующие стволовую клетку (СКК) костного мозга: способность к поддержанию, пролиферации и дифференциации.

© Л. Ф. АНДРИАНОВА, 1990.

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5

EFFECT OF THE RECIPIENT AGE ON THE EFFECT OF TRANSPLANTATION
OF LYMPHOID ORGANS IN NEWBORN DONORS

The development of immunological capacity of newborn thymus and spleen grafted under the kidney capsule of different-age recipients was investigated. The grafts functions appear to depend strongly upon the macroenvironment of the organism where their development occurs. Thereat the favourable influence of young environmental factors, gradually decreasing with the recipient age to become immunosuppressive in old animals is obtained. These data indicate a predominant significance of the macroenvironmental factors both in maturation of the immune system and its alteration during aging.

Institute of Gerontology,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутенко Г. М., Губрий И. Б. Первичный иммунный ответ у парабионтов разного возраста // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1980.— 89, № 4.— С. 435—437.
2. Бутенко Г. М., Губрий И. Б. Изучение механизма угнетения иммунного ответа при парабиозе животных разного возраста // Там же.— 1981.— 90, № 9.— С. 318—319.
3. Губрий И. Б. Первичный иммунный ответ в трансплантатах селезенки мышей СВА при различиях доноров и реципиентов по возрасту // Иммунология.— 1980.— № 5.— С. 48—51.
4. Губрий И. Б., Резников А. Г., Демченко В. Н., Бутенко Г. М. Прекращение овариальной цикличности молодой мыши при парабиозе ее со старой // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1987.— 103, № 2.— С. 205—208.
5. Дюкар Э. Клеточные взаимодействия в развитии животных.— М.: Мир, 1978.— 330 с.
6. Хирокава К. Тимус и ожидаемая продолжительность жизни // Иммуитет и старение (ежегодник «Геронтология и гериатрия»).— Киев, 1987.— С. 33—43.
7. Butenko G. M., Andrianova L. F. Functional properties of hemopoietic stem cells in ageing // Arch. Biol.— 1985.— 96, N 2.— P. 246—251.
8. Butenko G. M., Kharazi A. I. Effect of thymus grafts of various ages on the immunologic system formation in CBA mice // Mech. Ageing Devel.— 1985.— 30, N 2.— P. 227—237.
9. Hlavachkova J. V., Hruza Z. Differences in properties of newly formed collagen during aging and parabiosis // J. Gerontol.— 1972.— 27, N 1.— P. 178—182.
10. Sato K., Chang M.-P., Makinodan T. Influence of age on the ability of thymic adherent cells to produce factors in vitro which modulate immune responses of thymocytes // Cell. Immunol.— 1984.— 87, N 2.— P. 473—484.
11. Sidorenko A. V., Gubrii I. B., Andrianova L. F. et al. Functional rearrangement of lymphohemopoietic system in heterochronically parabiosed mice // Mech. Ageing Devel.— 1986.— 36, N 1.— P. 41—56.
12. Stutman O. Intrathymic and extrathymic T cell maturation // Immunol. Rev.— 1978.— 42, N 1.— P. 138—184.
13. Tauchi H., Sato T. Changes in hepatic cell mitochondria during parabiosis between old and young rats // Mech. Ageing Devel.— 1980.— 12, N 1.— P. 7—14.
14. Walford R. L. The immunological theory of aging. Current status // Fed. Proc.— 1974.— 33, N 11.— P. 2020—2027.

Ин-т геронтологии АМН СССР,
Киев

Материал поступил
в редакцию 30.02.90.

УДК 612.119.017.11:576.5

Л. Ф. Андрианова

**Пролиферативные и дифференцировочные свойства
стволовых кроветворных клеток костного мозга
у мышей линии СВА различного возраста**

Основные признаки, характеризующие сущность стволовой кроветворной клетки (СКК) костного мозга (КМ),— это ее способность к самоподдержанию, пролиферации и дифференцировке [6]. До настоящего

© Л. Ф. АНДРИАНОВА, 1990.