

45 мин в культуральных флаконах. Неприкрепившиеся клетки собирали, доводили до концентрации $2 \cdot 10^7$ кл/мл и разливали по 0,9 мл в пробирки с плоским дном ($1,25 \text{ см}^2$). В опытные пробирки добавляли 0,1 мл А-ПСХ и (или) туберкулин и другие антигены. Конечная концентрация А-ПСХ в пробирках составляла 30 мкг, туберкулина и М-белка — 25 мкг, солянокислого экстракта (НСИ-экстракт) стрептококка группы А — 20 мкг, бычьего сывороточного альбумина (БСА) — 50 мкг на 1 мл среды. В контрольные пробирки добавляли 0,1 мл среды без антигена и А-ПСХ. Учет результатов проводили через 18 ч на ПК ЛУ и через 36 ч на ПК селезенки. ПК предварительно окрашивали нейтральным красным или трипановым синим. Цитотоксический индекс (ЦИ) вычисляли по формуле:

$$\text{ЦИ} = \frac{A-B}{A} \cdot 100 \%,$$

где А — среднее число ПК в одном поле зрения в контроле, В — в опыте.

НСИ-экстракт получали из культуры стрептококка группы А, тип I или 29 по общепринятому методу Lanefield. А-ПСХ выделяли формамидным методом из культуры стрептококка группы А, тип I, обработанной пепсином [7]. Метод выделения М-белка стрептококка группы А описан в работе [11], где использован коммерческий препарат туберкулина (СССР, Казань) и БСА (СССР, Москва).

Результаты исследования. У мышей линии Balb/c и СВА на 6—8-й день после сенсibilизации БЦЖ по отеку лап обнаруживалась ГЗТ к туберкулину. Параллельно в аутологической системе на ПК ЛУ в присутствии туберкулина наблюдался четко выраженный цитотоксический эффект (рис. 1, а). Среднее значение ЦИ $49 \pm 5,0 \%$. В контроле при добавлении в среду неспецифических антигенов, содержащихся в НСИ-экстракте стрептококка группы А, цитотокси-

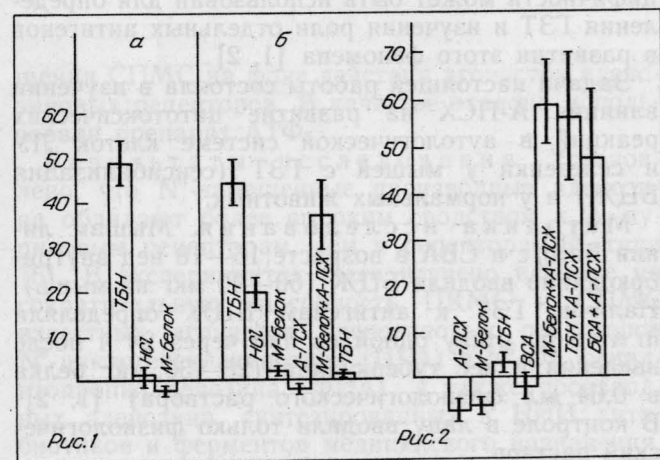


Рис. 1. Цитотоксический эффект в аутологической системе клеток ЛУ и селезенки при ГЗТ к антигенам БЦЖ.

а — цитотоксический эффект в аутологической системе клеток ЛУ; б — цитотоксический эффект на аутологической системе клеток селезенки. Здесь и на рис. 2: ТБН — туберкулин, А-ПСХ — полисахарид стрептококка группы А; М-белок — типоспецифический белок клеточной стенки стрептококка группы А; НСИ — солянокислый экстракт антигенов стрептококка группы А; БСА — бычий сывороточный альбумин. По оси абсцисс — ЦИ (в %).

Рис. 2. Стимулирующий эффект А-ПСХ на неспецифические цитотоксические реакции в аутологической системе клеток селезенки нормальных мышей.

ческий эффект отсутствовал. В отличие от этого в аутологической системе на ПК селезенки этих мышей цитотоксический эффект наблюдался не только в присутствии туберкулина (ЦИ $44 \pm 5,2 \%$), но и при добавлении в среду НСИ-экстракта стрептококка группы А ($20 \pm 3,3 \%$) или одновременно двух его компонентов: М-белка и А-ПСХ (ЦИ $37 \pm 4,2 \%$). Присутствие в культуральной среде только А-ПСХ или М-белка не приводило к развитию цитотоксического эффекта (рис. 1, б).

Эти наблюдения свидетельствуют, что в селезенке в отличие от ЛУ присутствуют клетки, способные оказывать цитотоксическое действие на аутологические ПК не только под влиянием специфического антигена (туберкулин), но и неспецифического (М-белок). При этом для проявления неспецифического цитотоксического эффекта необходимо одновременное присутствие в среде неспецифического антигена и А-ПСХ.

Исходя из этих результатов, в следующей серии экспериментов исследовано влияние А-ПСХ на развитие неспецифического цитотоксического эффекта у нормальных животных. С этой целью клетки селезенки нормальных мышей линии Balb/c или СВА культивировали в присутствии А-ПСХ и одного из антигенов: туберкулина, М-белка или БСА. Как видно на рис. 2, добавление в среду А-ПСХ одновременно с любым из этих антигенов приводило к развитию четко выраженного цитотоксического эффекта. Среднее значение ЦИ при добавлении в среду (А-ПСХ+туберкулин), (А-ПСХ+М-белок) или (А-ПСХ+БСА) составило соответственно $56 \pm 5,4$, $58 \pm 5,2$ и $47 \pm 9,6 \%$. В контроле при культивировании клеток селезенки нормальных мышей только в присутствии антигенов или А-ПСХ гибели ПК не наблюдалось.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что неспецифический цитотоксический эффект, наблюдаемый в аутологической системе на ПК селезенки под действием НСИ-экстракта стрептококка группы А у животных, сенсibilизированных БЦЖ, не связан с развитием ГЗТ. По-видимому, в селезенке как сенсibilизированных БЦЖ, так и нормальных животных в отличие от ЛУ присутствуют клетки, способные под влиянием А-ПСХ стимулировать цитотоксическое действие только А-ПСХ, необходим дополнительный антигенный стимул. Таким стимулом в наших исследованиях являлись антигены: туберкулин, М-белок стрептококка группы А и БСА. Представляет также интерес, что неспецифический цитотоксический эффект возникает независимо от развития ГЗТ и наблюдается у нормальных животных.

Как уже отмечено, у А-ПСХ имеются две детерминанты, общие с эпидермальным антигеном (или антигенами) эпителия тимуса [4, 5, 9]. Антитела к этим детерминантам молекулы А-ПСХ являются аутоантителами [4, 5]. Выказано предположение, что действие этих аутоантител может приводить к повреждению тимического эпителия и как следствие этого к нарушению дифференцировки лимфоцитов органа [4, 5, 9].

Вместе с тем результаты настоящего исследования свидетельствуют, что А-ПСХ способен ока-

зывать непосредственное влияние на отдельные субпопуляции лимфоцитов периферических лимфоидных органов, в частности селезенки. Влияние А-ПСХ может быть связано с его действием на клетки-эффекторы или на регуляторные субпопуляции Т-клеток, причем и в том и в другом случае на клетках должны быть рецепторы для А-ПСХ.

Как уже отмечалось, в тимусе есть субпопуляция лимфоцитов, несущих рецепторы для А-ПСХ [3]. Наличие таких рецепторов на клетках селезенки подтверждается результатами настоящего исследования. В этой связи представляют интерес данные, согласно которым неспецифические Т-супрессоры имеют рецептор для рамнозы, одного из основных компонентов молекулы А-ПСХ [8]. С помощью моноклональных антител у А-ПСХ обнаружена перекрестная детерминанта, в состав которой входит рамноза, общая с одним из эпидермальных антигенов тимуса [4, 5]. На основании имеющихся данных можно сделать предположение, что иммуномодулирующий эффект А-ПСХ обусловлен тем, что посредством своей перекрестной детерминанты он взаимодействует с рецептором лимфоцитов, предназначенным для соответствующего эпителиального антигена (фактора) тимуса и имитирует его функцию.

Таким образом, как носитель общих детерминант, А-ПСХ, во-первых, может способствовать повреждению эпителия тимуса аутоантителами, направленными к их общим эпитопам; во-вторых, выступать в роли функционального аналога тимического фактора, оказывая непосредственное воздействие на субпопуляции Т-лимфоцитов, а возможно, и на другие элементы иммунной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Базанова Е. А., Панасюк А. Ф., Лямперт И. М. // Вестн. АМН СССР. — 1986. — № 7. — С. 39—45.
2. Базанова Е. А., Бухова В. П., Лямперт И. М. // Журн. микробиол. — 1987. — № 8. — С. 67—71.
3. Гнездицкая Э. В., Бухова В. П., Базанова Е. А. // Бюл. экспер. биол. — 1988. — № 10. — С. 467—469.
4. Лямперт И. М. // Иммунология. — 1988. — № 4. — С. 5—9.
5. Лямперт И. М., Дробышевская Э. И., Рыжикова Е. А. и др. // Итоги науки и техники: Сер. иммунология. — М., 1988. — Т. 22. — С. 43—67.
6. Смирнова М. Н., Базанова Е. А. // Вестн. АМН СССР. — 1974. — № 11. — С. 14—17.
7. Collighan J. E., Schnute W. C., Kindt T. J. // J. Immunol. — 1975. — Vol. 114. — P. 1154—1158.
8. Kieda K., Monsigny M. // Leukocyte Typing II. — New York, 1986. — P. 531—535.
9. Lyampert I. M., Beletskaya L. V., Borodiak N. A. et al. // Immunology. — 1976. — Vol. 31. — P. 35—47.
10. Lyampert I. M., Smirnova M. N., Bazanova E. A. // Cell. Immunol. — 1980. — Vol. 52. — P. 325—333.
11. Manjula B. N., Fischetti V. A. // J. Immunol. — 1980. — Vol. 124. — P. 261—267.
12. Ruddle N. H., Waksman B. H. // Science. — 1967. — Vol. 157. — P. 1060—1062.
13. Ruddle M. H., Waksman B. H. // Int. Arch. Allergy. — 1979. — Vol. 58. — P. 44—52.

Поступила 15.04.89

GROUP A STREPTOCOCCAL POLYSACCHARIDE STIMULATES NONSPECIFIC CYTOTOXIC EFFECT OF SPLENOCYTES ON ANTOLOGOUS ADHERENT CELLS

E. V. Gnezditskaya, E. A., Bazanova, I. M. Lyampert, L. V. Beletskaya

Gamaleya Institute, AMS USSR

5 БЭБИМ № 2

It was shown the ability of group A streptococcal polysaccharide (A-PS) to stimulate nonspecific cytotoxic effect of spleen cells on antologous adherent cells (macrophages).

The stimulating effect can be observed in vivo under the treatment of spleen cells with A-PS and any antigen (BSA, PPD, M-protein of group A streptococci). In the presence of antigen A-PS can induce nonspecific cytotoxic effect of normal spleen cells (mice CBA, BalB/c) and of the mice with DHT and therefore these two immunologic phenomena do not depend on each other.

Because A-PS has cross-reactive (CR) determinant with thymus epithelial antigen (factor), it can be assumed that via the CR determinant A-PS links with T-cells receptor for this thymus factor and thus realized the stimulating effect as it's functional analogue.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1990

УДК 615.361.438+615.361.4761.03:[616-092:612.017.1.064]-092.9:598.2/.9

Ключевые слова: тимус; бурса Фабрициуса, иммунодепрессия; тималин, бурсилин

Т. Л. Сухина, Н. Д. Придыбайло, В. Г. Морозов, В. Х. Хавинсон

РЕГУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПЕПТИДОВ ТИМУСА И БУРСЫ ФАБРИЦИУСА ПРИ ИММУНОДЕПРЕССИИ У ПТИЦ

Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Всесоюзный научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства, Ленинград

Представлена акад. АМН СССР Ю. М. Лопухиним

У птиц четко разграничены функции лимфоэпителиальной ткани тимуса и бursы Фабрициуса. Известно, что клетки этих органов продуцируют факторы, принимающие участие в регуляции иммунологических реакций [2, 7, 11]. Установлено, что при введении бурсэктомизированным цыплятам пептидов, выделенных из бursы Фабрициуса, восстанавливаются реакции гуморального иммунного ответа, тогда как при введении пептидов тимуса такого эффекта не наблюдается [2].

Некоторые иммунодепрессивные вещества избирательно подавляют функциональную активность клеток тимуса и бursы у птиц. Глюкокортикоиды оказывают на тимодиты выраженное действие, характеризующееся снижением митотической активности, синтеза ДНК и РНК, а также утратой жизнеспособности части клеток [8]. Введение цыплятам циклофосфида является одним из способов супрессии В-системы иммунитета, связанной с выраженной атрофией бursы Фабрициуса [10, 13]. Известно, что подавление нормальной функции этого органа приводит к нарушению гуморального иммунитета [12, 15], причем циклофосфамид вызывает лишь незначительные изменения структуры тимуса у птиц [9]. Исследование в этих условиях иммунорегулирующего действия факторов тимуса и бursы Фабрициуса представляет значительный интерес.

Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение влияния пептидных биорегуляторов тимуса и бursы Фабрициуса на показатели нуклеинового и белкового обменов в лимфоэпителиальных органах цыплят, подвергнутых избирательной иммунодепрессии.

Методика исследования. Эксперимен-

тальные исследования проведены на цыплятах кросса «Бройлер-6», суточного возраста, находившихся в одинаковых условиях содержания и кормления. В 3-х дневном возрасте 45 цыплятам в течение 3 сут вводили интраперитонеально циклофосфан в дозе 60 мг/кг [9]. Другой группе, состоящей из 45 цыплят, вводили однократно интраперитонеально гидрокортизон в дозе 50 мг/кг [4].

В работе использовали пептидные биорегуляторы (цитомедины) с молекулярной массой 1000—10 000 дальтон [3], выделенные из тимуса (тималин) и бursы Фабрициуса (бурсилин). Эти препараты вводили птицам (по 15 цыплят в каждой группе) в оптимальных дозах (для тималина — 100 мкг/кг, для бурсилина — 50 мкг/кг), начиная со 2-х суток после инъекции иммунодепрессивных средств, двукратно. Контрольные цыплята [15] по аналогичной схеме получали 0,9 % раствор NaCl.

Субпопуляционный состав лимфоцитов и показатели нуклеинового и белкового обменов в клетках тимуса и бursы у птиц изучали в динамике — на 1, 5 и 15-сутки после окончания инъекции препаратов. Количество Т- и В-лимфоцитов в органах определяли методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием антисывороток к Т- и В-лимфоцитам цыплят. Антисыворотки получали иммунизацией кроликов лимфоцитами тимуса и бursы Фабрициуса цыплят. В качестве вторых антител использовали антисыворотку осла против γ -глобулинов кролика, меченную флюоресцеинизотиоцианатом. Интенсивность синтеза нуклеиновых кислот оценивали по включению ^3H -тимидина или ^3H -уридина, которые вводили цыплятам внутривентриально (в 0,9 % растворе NaCl) за 3 ч до умерщвления из расчета 10 мкКи на 100 г массы тела. Интенсивность синтеза белка определяли по включению ^{14}C -глицина, который также вводили внутривентриально из расчета 10 мкКи на 100 г массы тела за 2 ч до умерщвления. Все радиоизотопы («Изотоп», СССР) использовали в конечной концентрации 37 МБк/мл. Исследуемые ткани сразу после извлечения гомогенизировали в жидком азоте. Содержание нуклеиновых кислот в тканях определяли спектрофотометрическим методом [6]. Для более полного разделения нуклеиновых кислот проводили предварительную обработку материала по методу [14] в модификации

[1]. Содержание белка определяли спектрофотометрически после добавления к гидролизату раствора Бендикта. Кроме того, из сыворотки крови птиц методом высаливания сульфатом аммония выделяли γ -глобулины, количество которых определяли микробиуретовым методом, а интенсивность их синтеза — по включению ^{14}C -глицина. В вials для определения радиоактивности проб вносили по 0,5 мл гидролизата нуклеиновых кислот или белка и 9,5 мл сцинтилляционной жидкости. Радиоактивность определяли в жидкостно-сцинтилляционном счетчике «Magk III» (США). Результаты исследований обрабатывали с использованием параметрического и непараметрических методов статистического анализа [5].

Результаты исследования. Иммунодепрессия, вызванная введением циклофосфана и гидрокортизона, сопровождалась снижением клеточности и изменением субпопуляционного состава лимфоцитов тимуса и бursы Фабрициуса (табл. 1). Однако, если циклофосфан заметно снижал количество В-лимфоцитов в бурсе Фабрициуса и практически не влиял на лимфоциты тимуса, то введение гидрокортизона, напротив, сопровождалось преимущественным снижением числа Т-лимфоцитов в тимусе и не изменяло количества и соотношения Т- и В-лимфоцитов в бурсе Фабрициуса. Введение циклофосфана и гидрокортизона цыплятам вызывало снижение интенсивности включения ^3H -тимидина и ^3H -уридина в нуклеиновые кислоты тимуса и бursы Фабрициуса, а также включение ^{14}C -глицина в белки этих органов и в γ -глобулины сыворотки крови птиц (табл. 2 и 3). При этом циклофосфан оказывал более выраженное угнетающее действие на синтез ДНК, РНК и белков в бурсе и синтез α -глобулинов. Гидрокортизон влиял на тимус цыплят сильнее, чем циклофосфан. Из этого следует, что лимфоциты исследованных органов птиц различаются по чувствительности к иммунодепрессивному действию циклофосфана и гидрокортизона.

При исследовании в качестве иммунодепрессанта циклофосфана введение цыплятам бурсилина восстанавливало количество В-лимфоцитов и синтез нуклеиновых кислот и белка преимущественно в бурсе Фабрициуса. Пептиды тимуса в этих условиях только частично восстанавливали клеточный состав и активность синтеза биполи-

Таблица 1

Влияние тималина и бурсилина на количество Т- и В-лимфоцитов в тимусе и бурсе Фабрициуса на 5-е сутки после воздействия иммунодепрессантов ($M \pm m$)

Условия опыта	Тимус			Бурса Фабрициуса		
	масса, мг	количество Т-лимфоцитов	количество В-лимфоцитов	масса, мг	количество Т-лимфоцитов	количество В-лимфоцитов
Контроль	197,0 ± 19,1	610,1 ± 78,2	1,51 ± 0,17	135,0 ± 15,3	46,1 ± 5,3	330,2 ± 47,1
Введение гидрокортизона	62,0 ± 8,5*	370,3 ± 42,3*	1,03 ± 0,11	118,4 ± 11,9	40,2 ± 4,9	290,4 ± 33,6
Введение циклофосфана	167,4 ± 14,3	510,9 ± 67,2	1,12 ± 0,14	53,9 ± 6,1*	41,4 ± 5,1	190,2 ± 22,3*
Введение гидрокортизона и тималина	180,1 ± 17,2**	530,4 ± 61,3**	1,13 ± 0,11	124,0 ± 15,1	44,3 ± 6,7	309,4 ± 41,6
Введение циклофосфана и бурсилина	188,4 ± 21,4	545,2 ± 69,0	1,21 ± 0,13	128,4 ± 14,3**	43,3 ± 5,1	280,0 ± 37,4**

Примечание. Одна звездочка $p < 0,05$ по сравнению с контролем, две — по сравнению с группой цыплят, которым вводили циклофосфан или гидрокортизон.

Таблица 2

Влияние тималина и бурсилина на синтез нуклеиновых кислот у цыплят после воздействия иммунодепрессантов ($M \pm m$)

Условия опыта	Срок исследования, сут	Включение ^3H -тимидина в ДНК клеток		Включение ^3H -уридина в РНК клеток	
		тимус	бурса Фабрициуса	тимус	бурса Фабрициуса
Контроль	1	2270 ± 30	5599 ± 108	4291 ± 116	12 500 ± 204
	5	2280 ± 26	5833 ± 95	4248 ± 97	12 295 ± 108
	15	2340 ± 45	5853 ± 106	4450 ± 126	12 803 ± 213
Введение циклофосфана	1	1122 ± 30*	1474 ± 44*	3622 ± 108*	3641 ± 145*
	5	998 ± 37*	813 ± 27*	3480 ± 110*	1454 ± 113*
	15	1142 ± 37*	1695 ± 30*	3790 ± 106*	2986 ± 123*
Введение циклофосфана и тималина	1	2206 ± 34**	1535 ± 58	4020 ± 97**	3825 ± 88
	5	2265 ± 75**	1346 ± 36**	3876 ± 69**	2665 ± 152**
	15	2334 ± 89**	2023 ± 53**	4255 ± 91**	3066 ± 128
Введение циклофосфана и бурсилина	5	1093 ± 56	3033 ± 131**	3699 ± 102	4810 ± 93**
	1	1165 ± 54	3856 ± 95**	3805 ± 108	5343 ± 169**
	15	1207 ± 55	4057 ± 180**	3895 ± 83	5415 ± 143**
Введение гидрокортизона	1	473 ± 12*	3042 ± 102*	1725 ± 90*	5243 ± 109*
	5	311 ± 10*	3209 ± 88*	1049 ± 37*	4221 ± 74*
	15	241 ± 15*	4122 ± 75*	1514 ± 47*	5358 ± 149*
Введение гидрокортизона тималина	1	1219 ± 14*	4147 ± 87**	2813 ± 91**	6497 ± 202**
	5	1120 ± 15**	3647 ± 103**	3047 ± 146**	5745 ± 170**
	15	1836 ± 28**	5248 ± 104**	3945 ± 104**	6013 ± 181**
Введение гидрокортизона и бурсилина	1	521 ± 15**	5415 ± 60**	1932 ± 65**	6787 ± 151**
	5	426 ± 19**	5486 ± 97**	1477 ± 117**	6755 ± 129**
	15	346 ± 19**	5537 ± 105**	2795 ± 88**	7495 ± 172**

меров в тимусе и в бурсе, причем действие их на бурсу по сравнению с бурсилином было менее выраженным.

При использовании в качестве иммунодепрессанта гидрокортизона введение тималина цыплятам способствовало нормализации числа Т-лимфоцитов в тимусе и более эффективному восстановлению в этом органе интенсивности синтеза ДНК, РНК и белка по сравнению с бурсой Фабрициуса. В свою очередь, бурсилин оказывал более выраженное стимулирующее действие на бурсу, чем тималин.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что клетки тимуса более активно реагируют на

введение гидрокортизона и пептидов тимуса, а лимфоциты бursы Фабрициуса обладают повышенной чувствительностью к циклофосфану и пептидам бursы. Учитывая существенные различия в составе клеток тимуса и бursы Фабрициуса (преобладание в тимусе Т-лимфоцитов, а в бурсе В-лимфоцитов на разных стадиях их созревания), можно предположить, что пептиды тимуса восстанавливают синтез нуклеиновых кислот и белка преимущественно в Т-лимфоцитах, а пептиды бursы — в В-клетках и их предшественниках. Об этом свидетельствует нормализация количества Т-лимфоцитов в тимусе и В-лимфоцитов в бурсе Фабрициуса при введении тималина

Таблица 3

Влияние тималина и бурсилина на синтез белков у цыплят после воздействия иммунодепрессантов ($M \pm m$)

Условия опыта	Срок исследования, сут	Включение ^{14}C -глицина в белки, нмп/мин на 1 мг белка		
		тимус	бурса Фабрициуса	гамма-глобулины сыворотки крови
Контроль	1	792 ± 23	1499 ± 38	820 ± 28
	5	842 ± 19	1532 ± 51	864 ± 24
	15	804 ± 22	1513 ± 49	874 ± 41
Введение циклофосфана	1	632 ± 16*	429 ± 19*	325 ± 15*
	5	624 ± 11*	245 ± 21*	172 ± 22*
	15	675 ± 11*	694 ± 27*	385 ± 31*
Введение циклофосфана и тималина	1	706 ± 15**	461 ± 18	491 ± 36**
	5	776 ± 18**	423 ± 28**	396 ± 29**
	15	784 ± 12**	828 ± 12**	670 ± 28**
Введение циклофосфана и бурсилина	1	679 ± 23	824 ± 55**	591 ± 21**
	5	674 ± 16**	899 ± 23**	670 ± 27**
	15	728 ± 19**	1253 ± 54**	793 ± 23**
Введение гидрокортизона	1	277 ± 12*	1228 ± 31*	478 ± 16*
	5	190 ± 18*	1227 ± 32*	495 ± 28*
	15	406 ± 13*	1178 ± 32*	545 ± 19*
Введение гидрокортизона и тималина	1	348 ± 12**	1299 ± 27	614 ± 17**
	5	405 ± 15**	1356 ± 30**	641 ± 26**
	15	630 ± 19**	1365 ± 41**	796 ± 26**
Введение гидрокортизона и бурсилина	1	286 ± 8	1340 ± 22**	779 ± 29**
	5	203 ± 14	1511 ± 45**	807 ± 25*
	15	472 ± 12**	1492 ± 62**	855 ± 19**

Продукция эйкозаноидов (нг/10⁶ клеток) моноцитами адсорбированной крови (M±m)

Источник моноцитов	Число перфузий	ПГЕ ₂	ПГФ _{1α}	ПГФ _{2α}	ТВ ₂	ЛТВ ₄	ЛТС ₄
Доноры (норма) (n=12)	0	8,2±0,3	0,9±0,06	3,2±0,2	9,4±1,2	14,3±2,6	8,3±0,6
	5	12,8±0,9	2,2±0,1	4,6±0,6	13,8±1,9	17,6±2,3	11,5±1,8
	10	18,3±0,8	3,7±0,4	9,0±1,1	26,6±3,3	32,3±5,0	29,3±2,4
Больные ВП (n=12)	0	3,0±0,2*	0,4±0,02*	2,8±0,2	11,9±2,3	16,6±2,9	8,9±0,9
	5	10,1±0,8*	1,8±0,2	3,3±0,7	15,0±1,4	19,9±2,5	13,6±1,4
	10	16,8±1,2	3,6±0,3	7,8±0,8	23,5±4,0	37,3±5,3	28,6±4,1
Больные БП (n=11)	0	4,3±0,1*	0,5±0,07*	4,1±0,6	9,6±1,0	15,3±2,1	10,2±1,5
	5	12,8±0,5	2,0±0,8	5,0±0,7	12,8±1,4	18,7±2,0	12,6±1,4
	10	19,9±0,9	3,8±0,4	9,3±0,9	25,8±3,2	31,6±4,8	27,6±3,4

14. Schmidt Y., Thannhauser S. J. // J. biol. Chem.— 1945.— Vol. 161.— P. 83—87.
 15. Warner N. L., Szenberg A. // Ann. rev. Microbiol.— 1964.— Vol. 18.— P. 253—268.

Поступила 10.05.89

REGULATING PROPERTIES OF THE PEPTIDES OF THE THYMUS AND BURSA OF FABRICIUS IN IMMUNODEPRESSION OF BIRDS

T. L. Sukhinina, N. D. Pridybailo, V. G. Morosov, V. Kh. Khavinson

The Kirov Military Medical Academy, Leningrad
The All-Union Scientific Research Institute of Agriculture, Leningrad

The intensity of nucleic acids and protein synthesis in the cells of the thymus and the bursa of Fabricius was studied in chickens against the background of an immunodepression induced by administration of hydrocortisone and cyclophosphamide. It was found out that hydrocortisone causes in chicken a marked lowering of the intensity of inclusion of ³H-thymidine, ³H-uridine and ¹⁴C-glycine in thymic cells, and cyclophosphamide — in the cells of the bursa of Fabricius. Under the conditions of selective immunodepression the preparations on the basis of the peptides of the thymus (thymaline) and of the bursa of Fabricius (bursiline) regulate the processes of nucleic acids and protein synthesis chiefly in the cells of organs which produce them.

© С. А. ГРАНДО, Г. Н. ДРАННИК, 1990

УДК 615.38.015.2:615.246.2].015.4:612.112.95.017.1].036.8

Ключевые слова: гемосорбция; простагландин; лейкотриены; пемфигус; пемфигиод

С. А. Грандо, Г. Н. Дранник

ЗНАЧЕНИЕ УСИЛЕННОЙ ПРОДУКЦИИ ЭЙКОЗАНОИДОВ В ПОВЫШЕНИИ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ ПОСЛЕ ГЕМОСОРБЦИИ

Кафедра дерматовенерологии (зав.— проф. Б. Т. Глухенький) Киевского института усовершенствования врачей
Представлена акад. АМН СССР Р. В. Петровым

При лечении аутоиммунных буллезных дерматозов — вульгарной пузырчатки (ВП) и буллезного пемфигиода (БП) с успехом применяются методы экстракорпоральной очистки крови [2]. Терапевтический эффект этих процедур связывают с нормализующим влиянием гемосорбции на лектинзависимую пролиферацию мононуклеаров [4], реакции интерлейкинового каскада [15], а также с удалением из сорбируемой крови патогенных аутоантител, иммунных комплексов и «блокирующих факторов». Один из таких факторов был идентифицирован в элюатах с углей после сорбции крови больных псориазом [3]. В других работах было показано, что из крови также удаляются вещества, ингибирующие продукцию лимфокинов [14], а сыворотка адсорбированной крови приобретает иммуносупрессивные свойства [6]. Несмотря на то что феномен стимуляции супрессорной активности аутологичной сыворотки при гемосорбции широко применяется при лечении различных иммунопатологических состояний [1—3, 5, 6], механизм этого явления еще до конца не изучен, так как повышение продукции α₂-макроглобулина и других белков «острой

фазы», обладающих иммуносупрессивным эффектом [8], наступает лишь на 15—20-й день после процедуры [2, 4].

В связи с иммунорегуляторной ролью эйкозаноидов [9, 13] целью работы явилось изучение продукции циклооксигеназных и липоксигеназных метаболитов арахидоновой кислоты в динамике экспериментальной сорбции крови доноров и больных ВП и БП.

Методика исследования. Экспериментальную сорбцию крови 12 ранее нелеченых больных ВП и БП в возрасте 39—67 лет проводили ранее описанным методом [1] на аппарате УЭГ-01 с использованием колонок с углеродным гемокарбосорбентом типа СКН. Перед началом первой лечебной процедуры гемосорбции из сосудистого русла больных отбирали 500 мл венозной крови и перед возвратом ее больному осуществляли 2—10-кратную перфузию через колонку, содержащую 50 г сорбента. Аналогичную процедуру выполняли с 12 флаконами (450 мл) донорской крови, полученной у здоровых людей в возрасте 25—45 лет на Киевской станции переливания крови. В процессе экспериментальной гемосорбции делали заборы адсорбированной крови для исследования плазменных концентраций простагландинов (ПГ) Е₂ 6-кето-ПГФ_{1α} (ПГФ_{1α}), ПГФ_{2α}, тромбоксана В₂ (ТВ₂), лейкотриенов (ЛТ) В₄ и С₄ методом радиоиммунного анализа, согласно инструкциям фирм-изготовителей реактивов. Параллельно исследовали способность моноцитов адсорбированной крови продуцировать эйкозаноиды. Для этого на первом этапе выделяли на стандартном градиенте плотности фикола — верографина фракцию мононуклеаров и оставшиеся эритроциты удаляли гипотоническим

лизисом, а на втором — из суспензии мононуклеаров изолировали моноциты путем центрифугирования в течение 20 мин при 800 g на градиенте плотности 50 % перколла [11]. Собранные клетки ресуспендировали до концентрации 1·10⁶ клеток/мл в среде Эрла без фенолового красного, содержащей 10 % претестированной инактивированной теплом (56 °С, 30 мин) эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, «Serwa», ФРГ), а затем инкубировали в СО₂-инкубаторе в присутствии 10⁻⁵ М кальциевого ионофора А 23187 («Sigma», США). Собранные после 30-минутной инкубации культур супернатанты немедленно замораживали. Жизнеспособность более чем 90 % исследованных клеток была подтверждена в тесте с трипановым синим, а их принадлежность к моноцитам (более 95 %) — по окрашиванию 1 % раствором α-нафтилэстеразы. Влияние сыворотки адсорбированной крови на активность иммунокомпетентных клеток было изучено путем ее совместной (50 % v/v) инкубации в течение 24 ч в СО₂-инкубаторе с суспензией мононуклеаров, выделенных из интактной донорской крови на стандартном градиенте плотности фикола — верографина, ресуспендированных до концентрации 2,5·10⁶ клеток/мл в среде RPMI 1640 («Serwa»), содержащей 2 мМ L-глутамин, 1 % аминокислот («GIBCO», Великобритания), 5·10⁻⁵ М 2-меркаптоэтанола («Sigma»), 10 мМ НЕРЕС-буфера («Serwa»), 10 % ЭТС и антибиотиков. Культуры инкубировали в присутствии 0,5 мкг/мл фитогемагглютинаина (ФГА) или 1,5 мкг/мл конканавалина А (Кон А; Phagmacia LKB Biotechnology АВ», Швеция). За 6 ч до конца культивации добавляли ³H-тимидин — 15 Сu/ммоль («Amersham», Великобритания).

Таблица 2

Содержание эйкозаноидов в плазме адсорбированной крови (M±m)

Источник плазмы	Число перфузий	ПГЕ ₂ /ПГФ _{2α}	ТВ ₂ /ПГФ _{1α}	ЛТВ ₄ , пг/мл	ЛТС ₄ , пг/мл
Доноры (норма) (n=12)	0	3,4±0,2	10,6±1,2	226,4±18,3	102,7±14,3
	5	3,5±0,3	14,7±1,4	274,5±16,8	122,4±17,6
	10	3,8±0,5	13,4±1,3	338,4±26,2	156,3±10,3
Больные ВП (n=12)	0	1,2±0,07*	17,4±2,1*	293,5±15,8*	139,3±18,2
	5	2,0±0,1*	18,3±1,6	304,8±19,6	156,3±11,9
	10	3,2±0,4	15,3±1,4	341,5±22,6	169,4±11,8
Больные БП (n=11)	0	1,5±0,09*	13,6±0,9*	256,3±18,3	124,8±10,6
	5	2,3±0,2*	15,4±1,2	278,3±11,9	144,3±16,8
	10	3,6±0,4	15,3±1,7	317,3±20,6	161,7±12,3

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 звездочка — показатели достоверно (p<0,05) отличаются от соответствующего показателя у доноров, остальные — p>0,05.

и бурсилина цыплятам на фоне избирательной иммунодепрессии, вызванной введением гидрокортизона или циклофосфамида (см. табл. 1).

Более выраженное снижение синтеза γ-глобулинов цыплят после введения циклофосфана (см. табл. 2) можно связать с преимущественным действием этого иммунодепрессанта на бурсу Фабрициуса, в частности, на созревающие в ней В-клетки. Введение бурсилина и тималина приводило к восстановлению интенсивности синтеза γ-глобулинов у птиц. Однако пептиды бursы вызывали более значимое увеличение содержания γ-глобулинов в сыворотке крови цыплят.

При сочетанном применении тималина и бурсилина конечный результат введения препаратов определялся главным образом исходным состоянием иммунодепрессии. У цыплят, получавших гидрокортизон, отмечался эффект, присущий тималину: восстановление количества Т-лимфоцитов и синтеза нуклеиновых кислот и белка преимущественно в тимусе. В то же время у птиц, которым вводили циклофосфан, наблюдалась нормализация числа В-лимфоцитов и синтеза биополимеров главным образом в бурсе Фабрициуса, что характерно для бурсилина. В ряде случаев констатировано суммирование эффектов обоих препаратов, которое, однако, не было достоверным.

Таким образом, тималин и бурсилин обладают способностью регулировать процессы синтеза нуклеиновых кислот и белка в клетках тимуса и бursы Фабрициуса. Различия в биологическом действии препаратов, по-видимому, связаны с их влиянием на разные популяции клеток: тималина — на Т-лимфоциты, бурсилина — на В-лимфоциты и их предшественники. В условиях избирательной иммунодепрессии пептиды тимуса бursы действуют преимущественно на органы, которые их продуцируют. Тималин и бурсилин могут использоваться в качестве средств для целенаправленной коррекции функций лимфоидных клеток и повышения их устойчивости в условиях иммунодепрессии.

ЛИТЕРАТУРА

- Галкин В. В., Бердышев Г. Л. // Биохимия.— 1968.— Т. 33, вып. 1.— С. 66—72.
- Кузник Б. И., Степанов А. В., Цыбиков Н. Н. и др. // Бюл. exper. биол.— 1987.— № 4.— С. 449—451.
- Морозов В. Г., Хавинсон В. Х. // Докл. АН СССР.— 1981.— Т. 261, № 1.— С. 235—239.
- Петров Р. В., Хаитов Р. М., Рачков С. М. // Бюл. exper. биол.— 1975.— № 1.— С. 63—66.
- Рокитский П. Ф. // Биологическая статистика.— Минск, 1974.— С. 178—179.
- Цанев Р. Г., Марков Г. Г. // Биохимия.— 1960.— Т. 10, вып. 6.— С. 151—156.
- Brand A., Gilmour D. G., Goldstein G. // Science.— 1976.— Vol. 193.— P. 319—321.
- Dougherty T. F., Berliner M. L., Schneebeli G. L., Berliner D. L. // Ann. N. Y. Acad. Sci.— 1964.— Vol. 13.— P. 825—843.
- Fedlie A. et al. // Avian Dis.— 1976.— Vol. 20.— P. 467—477.
- Glick B. // Transplantation.— 1971.— Vol. 11.— P. 433—439.
- Goldstein G. // Differ. Norm. and Neoplastic Hematopoietic Cell. Book A.— New York, 1978.— P. 455—465.
- Hammer D. K. // Avian Path.— 1974.— Vol. 3.— P. 65—78.
- Rouse B. T., Szenberg A. // Aust. J. exp. Biol. med. Sci.— 1974.— Vol. 52.— P. 873—885.