

Э. Д. СТЕПАНЯН, Р. А. ПЕТРОСЯН, Л. П. ГРИГОРЕНКО

ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРА ВРЕМЕНИ В ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

Изучение иммунобиологических процессов, протекающих в организме в зависимости от времени, представляет значительный интерес. В самом деле, нельзя себе представить специфическую борьбу против различных инфекционных заболеваний, равно как и передачу антигенной информации в отдельных клеточных элементах организма, без глубокого и всестороннего их исследования в аспекте значения фактора времени.

Огромный вклад в познание значения интервалов времени при повторных вакцинациях внесли систематические исследования П. Ф. Здродовского и его школы [6]. Опираясь на собственные и литературные данные, он пришел к заключению, что правильное расположение прививок во времени более эффективно, нежели увеличение их числа и повышение дозировок антигена. Однако выдвинутое им «правило интервалов» проявлялось в организме по-разному в зависимости от применения растворенного или корпускулярного антигенов. Объясняется это неодновременным вовлечением различных клеточных образований в иммуногенез.

В этой связи пристального внимания заслуживают иммунобиологические и цитоиммунологические исследования, указывающие на существенную роль времени в поствакцинальных изменениях общих и специфических иммунологических процессов [2, 4, 7, 8, 10—13]. На основании этих и подобных работ рельефнее стало вырисовываться представление, согласно которому антигенное раздражение вызывает в организме как специфические, так и неспецифические реакции, нередко разграниченные между собой во времени [1, 5, 9].

Однако сущность и биологическая значимость указанных процессов остаются до сих пор невыясненными. Пытаясь приблизиться к разрешению этих вопросов, мы задались целью на примере изменения митотического деления клеток костного мозга при дробном воздействии бактериальных антигенов выяснить значение фактора времени в динамике развития специфических и неспецифических реакции. Выбор объекта изучения оправдывался тем, что митотическое деление клеток, с одной стороны, неспецифически изменяется от качественно разнообразных агентов, а с другой,— оно участвует в передаче специфической антигенной информации.

Материал и методика. Опыты ставились на белых крысах-самцах линии Вистар примерно одинакового возраста и веса (100—150 г). Подопытные крысы в различное время после введения бактериального антигена декапитировались в 12 час. дня, и из бедренной кости осторожно извлекался костный мозг [3]. Фиксация его производилась в ацеталкоголе (1:3) при температуре около 0°C. В давленных препаратах костного мозга, окрашенных ацетоорсеином, определялась митотическая активность преимущественно лимфоидных и миелоидных клеток, вычисляемая в процентах от общего количества подсчитанных клеток (10 тыс.).

В качестве бактериальных антигенов служила взвесь убитых нагреванием бруцеллезных и паратифозных культур, содержащая 10 млрд микробных тел в 1 мл физиологического раствора. Антигены инъецировались крысам внутривенно по 0,25 мл один и двукратно с различными интервалами.

Исследования имели два раздела. В первом бруцеллезный антиген впрыскивался в 1-ой серии однократно, а в опытах 2, 3, 4, 5 и 6-ой серий—двукратно с интервалами соответственно в 1, 4, 8, 12 и 16 дней. Во втором разделе паратифозный (1-ая серия) и бруцеллезный (2-ая серия) антигены вводились животным раздельно, а в опытах 3, 4 и 5-ой серий паратифозный антиген инъецировался крысам соответственно через 1, 12 и 16 дней после начальной вакцинации бруцеллезным антигеном.

Митотическая активность определялась после окончания иммунизации чаще спустя 3 часа, а также 1, 4, 8, 12 и 16 дней. На каждый срок изучения использовалось 3—5 крыс. Опытные серии подкреплялись контрольными группами.

Результаты исследования. Из данных, отраженных в табл. 1, видно, что после однократной инъекции бруцеллезного антигена митотическая активность клеток костного мозга четко возрастает и нормализуется на 12 и 16 дни (1-ая серия). Аналогичная картина наблюдалась и в опытах 2, 3 и 4-ой серий, где тот же бактериальный антиген впрыскивался в ранние сроки (1, 4 и 8 дни) после начальной вакцинации.

Наиболее интересные явления обнаружались в опытах 5 и 6-ой серий, где инъекция бруцеллезного антигена производилась в поздние сроки (12 и 16 день) после вакцинации. В этих условиях деление клеток на реиммунизацию во всех периодах наблюдения варьировало в пределах нормы. Любопытно, что такая клеточная реакция укладывалась в те же сроки (12 и 16 день), в какие отмечалась нормализация митозов после однократной вакцинации (1-ая серия). Очевидно, стимуляция деления клеток, наступающая в ответ на первичную иммунизацию, к 12 дню спадает, и на этом уровне повторное воздействие антигена не приводит к обычному повышению митозов. По-видимому, относительная клеточная ареактивность в поздние сроки после вакцинации служит морфологическим выражением сформировавшегося активного иммунитета.

Рассматривая полученные результаты с точки зрения зависимости иммунологических реакций клеток от фактора времени, можно подметить в них две особенности. Во-первых, отсутствие аддитивного действия антигенов на митоз в ранние сроки после ревакцинации, во-вторых, полное выпадение клеточной стимуляции у иммунизированных животных в поздние сроки их ревакцинации. Как видно, после первичной вакцинации морфологические изменения клеток костного мозга к 12 дню исчезают, а явление иммунитета, наоборот, формируется.

Стремясь объяснить выпадение цитологической реакции на реиммунизацию в начальные периоды после вакцинации, наиболее вероятно бы-

Таблица 1

Изменение митотической активности в зависимости от интервалов времени между двукратными вакцинациями белых крыс

Серия	Условия опыта	Норма	Митотическая активность, ‰					
			после дробной вакцинации через					
			3 час.	1 дн.	4 дн.	8 дн.	12 дн.	16 дн.
		$1,8 \pm 0,0008$ (5)						$1,9 \pm 0,002$ (4)
1	Однократная вакцинация		$2,4 \pm 0,0025$ (4)	$2,4 \pm 0,0012$ (3)	$2,8 \pm 0,0012$ (5)	$2,6 \pm 0,001$ (3)	$1,5 \pm 0,0012$ (4)	—
2	Ревакцинация через 24 час.		$2,8 \pm 0,0013$ (3)	$2,7 \pm 0,0012$ (4)	$3,5 \pm 0,0013$ (5)	$2,4 \pm 0,001$ (3)	—	—
3	Ревакцинация через 4 дн.		$3,0 \pm 0,010$ (4)	$3,3 \pm 0,002$ (3)	$2,6 \pm 0,0014$ (5)	$3,2 \pm 0,0012$ (3)	—	—
4	Ревакцинация через 8 дн.		$2,1 \pm 0,007$ (1)	$2,6 \pm 0,001$ (4)	$2,8 \pm 0,0009$ (3)	$3,1 \pm 0,001$ (3)	—	—
5	Ревакцинация через 12 дн.		—	$1,7 \pm 0,002$ (4)	$1,6 \pm 0,0001$ (3)	—	—	—
6	Ревакцинация через 16 дн.		—	$1,8 \pm 0,002$ (5)	$1,7 \pm 0,002$ (3)	—	—	—

Примечание: В скобках указывается количество животных.

до бы предположить, что применяемое нами количество бактериальных тел (2,5 млрд) вызывает чрезмерную стимуляцию деления клеток и поэтому повторное впрыскивание той же дозы антигена не возбуждает вновь митотическую активность. Для проверки высказанного допущения прежде всего следует выяснить значение силы антигенного раздражения в изменениях митотической активности. С этой целью крысам инъецировалось внутривенно различное количество бактериальных тел (10, 5, 2, 5, 0,1, 0,01, 0,001 и 0,0001 млрд) в объеме 0,1—0,2 мл.

Таблица 2

Влияние интравенозного введения различных количеств бактериальных тел на митотическую активность

Серия	Условия опыта	Количество животных	Митотическая активность, ‰	
			норма	на 4-й день
			$1,8 \pm 0,0008$	
1	Инъекция 10 млрд бруцелл	5		$2,2 \pm 0,002$
2	Инъекция 5 млрд бруцелл	5		$2,2 \pm 0,002$
3	Инъекция 2,5 млрд бруцелл	5		$2,8 \pm 0,0012$
4	Инъекция 0,1 млрд бруцелл	3		$2,9 \pm 0,0015$
5	Инъекция 0,01 млрд бруцелл	3		$3,1 \pm 0,0027$
6	Инъекция 0,001 млрд бруцелл	3		$2,6 \pm 0,0027$
7	Инъекция 0,0001 млрд бруцелл	3		$2,6 \pm 0,0040$

Из табл. 2 явствует, что на 4-ый день после иммунизации животных митотическая активность интенсифицируется слабее при введении крысам больших доз антигена (1 и 2-ая серии) и сильнее при инъекции малых доз (3, 4, 5, 6 и 7-ая серии). Причем в последних случаях митоз активизировался независимо от вариабельности малых доз антигена.

Таким образом, изложенные результаты служат веским доказательством правомерности ранее сделанного нами допущения об исчерпывающем воздействии испытуемой в прошлом дозы (2,5 млрд) бактериального антигена на процессы деления клеток костного мозга. Отсюда можно было полагать, что отсутствие клеточной реакции на повторное введение бруцеллезного антигена в ранние сроки после иммунизации обусловливается преимущественно неспецифическими, а выпадение ее при реиммунизации в позднее время—специфическими иммунобиологическими процессами.

Для подтверждения высказанного предположения крысы сначала иммунизировались внутривенно бруцеллезным антигеном (2,5 млрд). Затем спустя 1 (3-ья серия), а также 12 (4-ая серия) и 16 (5-ая серия) дней этим же крысам интравенозно вводился паратифозный антиген (2,5 млрд). В контрольных опытах (1 и 2-ая серии) животные иммунизировались врозь бруцеллезным и паратифозным антигенами. Цитологические исследования проводились через день после реиммунизации.

Из табл. 3 следует, что отдельное применение разноименных антигенов вызывает через день резкую стимуляцию митотической активности (1 и 2-ая серии). Такая же стимуляция митозов наблюдалась и в тех

Таблица 3

Изменения митотической активности в зависимости от интервалов времени между применениями двух разнородных антигенов

Серия	Условия опыта	Количество животных	Митотическая активность, ‰	
			норма	через 1 день
		5	1,8 \pm 0,0008	
1	Введение бруцеллезного антигена	4		2,2 \pm 0,0026
2	Введение паратифозного антигена	4		2,1 \pm 0,0024
3	Введение бруцеллезного антигена и через 24 час. — паратифозного	3		2,2 \pm 0,0023
4	То же самое через 12 дней	5		2,1 \pm 0,0017
5	То же самое через 16 дней	5		2,3 \pm 0,0012

опытах (3, 4 и 5-ая серии), в которых животные предварительно обрабатывались бруцеллезным антигеном и в различное время после этого им вводился паратифозный антиген. Хотя во всех упомянутых опытах (3, 4 и 5-ая серии) количество митозов одинаково нарастало, тем не менее в них можно было заметить качественные различия. Действительно, на введение паратифозного антигена в ранние сроки после инъекции бруцеллезного клеточная реакция полностью исчезала (3-ья серия). Об этом говорит отсутствие митотического эффекта суммации на воздействия двух разнородных антигенов. Между тем на реиммунизацию в поздние сроки (12 и 16 день) после впрыскивания бруцеллезного антигена ответная цитологическая реакция на паратифозный антиген была ярко выражена (4 и 5-ая серии).

Чтобы разобраться в полученных результатах, необходимо вновь обратиться к данным опытов 1-ой серии, отраженных в табл. 1. Из них вытекает, что поствакцинальная стимуляция митоза нормализуется на 12 и 16 дни. Сравнивая же результаты прошлых экспериментов с настоящими, легко увидеть, что у животных в более поздний период после иммунизации бруцеллезным антигеном митотическая активность на повторное введение одноименного антигена не изменяется, а на инъекцию паратифозного антигена она резко повышается. Отсутствие цитологической реакции на паратифозный антиген в ранние и наличие ее в поздние сроки после вакцинации животных бруцеллезным антигеном свидетельствуют о неодинаковых механизмах, лежащих в их основе. Рассматривая их через призму различных форм проявления иммунобиологических реакций, можно полагать, что отсутствие клеточной реакции на реиммунизацию в ранний период после вакцинации обуславливается преимущественно неспецифическими, а в поздний—специфическими процессами.

В свете изложенного нам в общих чертах представляется, что на антигенное раздражение клетки костного мозга отвечают неспецифическими и специфическими реакциями, причем обе реакции взаимосвязаны тем теснее, чем меньше времени проходит с момента вакцинации. И только позднее неспецифические явления постепенно спадают с прогрессивным

нарастанием во времени специфических. Эти явления развиваются от генерации к генерации клеток, и на 12—16 дни в тканях костного мозга выступает четко специфический иммунитет.

В заключение подчеркнем, что обнаруженные нами факты были выявлены при испытании необычайно больших количеств бактериальных тел. Поэтому не исключено проявление иных закономерностей при испытании пороговых доз антигенов в отношении митотической активности клеток костного мозга. Разрешению затронутого вопроса посвящаются наши дальнейшие исследования.

Таким образом, из сказанного можно сделать следующие выводы:

Внутривенная иммунизация белых крыс бруцеллезным и паратифозным антигенами возбуждает митотическую активность клеток костного мозга; она повышается сильнее на умеренные, чем на сравнительно большие дозы бруцеллезного антигена.

Выпадение клеточной реакции на повторное введение одноименного бактериального антигена в ранние сроки после начальной вакцинации обуславливается главным образом неспецифическими, а в поздние сроки—специфическими иммунобиологическими процессами.

Институт зоологии
АН АрмССР

Поступило 14.V 1970 г.

Է. Գ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Ռ. Ա. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ, Լ. Պ. ԿՐԻՒՈՐԵՆԿՈ

ԺԱՄԱՆԱԿԻ ՖԱԿՏՈՐԻ ՆՇԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՍԿՐԱՈՒՂԵՂԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻ
ՄԻՏՈՏԻԿ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԵՏՎԱԿՑԻՆԱԿ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո ս մ

Սպիտակ առնետների վրա կատարված ուսումնասիրություններից պարզվեց, որ բրուցելոզի կամ պարատիֆի անտիգենի ներերակային ներարկումը գրգռում է ոսկրուղեղի բջիջների միտոտիկ ակտիվությունը: Ըստ որում, միտոզը բարձրանում է բրուցելոզի անտիգենի ոչ թե բարձր, այլ շափավոր դոզաներից:

Նույն և տարբերանուն անտիգենների կրկնակի օգտագործումը ցույց տվեց, որ բջջային ուսկրցիայի անհետացումը բակտերիալ անտիգենի կրկնակի ներարկումից հետո, վաղ ժամանակաշրջանում, պայմանավորվում է հիմնականում ոչ սպեցիֆիկ, իսկ ուշ ժամանակամիջոցում՝ սպեցիֆիկ իմմունոբիոլոգիական պրոցեսներով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Адо А. Д. Антигены как чрезвычайные раздражители нервной системы. М., 1952.
2. Васильева Л. В. Вопросы инфекционной патологии. Изд. АМН СССР, 1, 1949.
3. Гололобова М. Т. Бюлл. экпер. биологии и мед. 3, 1959.
4. Гурвич Г. А., Шумакова Г. В. Вестник АМН СССР, 1, 1960.

5. Дурмишьян М. Г. Учение И. П. Павлова — основа развития современной медицинской науки. М., 1952.
6. Здродовский П. Ф. Проблемы инфекции, иммунитета и аллергии. М., 1963.
7. Залкинд С. Я. ДАН СССР, 119, 2, 1958.
8. Климентова А. А. Вопросы инфекционной патологии и иммунологии. Изд. АМН СССР, 1, 1949; ЖМЭИ 5, 1958.
9. Покровская М. П., Каганова Л. С. Цитологический метод изучения механизма иммунитета. Свердловск, 1947.
10. Райский М. И. Харьковский мед. журнал, 135, 1915.
11. Рошковская М. М. ЖМЭИ, 7, 12—16, 1952.
12. Сухова Н. О. Сб. докладов Томского университета, 1961.
13. Тер-Осипова М. З., Голербах А. Н., Панина Л. Г. Проблемы эпидемиологии и иммунологии. Изд. ВИЭМ, Л., 1936.