

О ДЕЙСТВИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА НА РЭС И ФОРМИРОВАНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОГО ИММУНИТЕТА

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

Установлено, что раздельное применение бактериального эндотоксина и противовирусной вакцины однонаправленно стимулирует фагоспособность РЭС и митотическое деление клеток у белых крыс. Однако комбинированное их применение ослабляет формирование противовирусного иммунитета вплоть до полного его устранения.

Одним из характерных свойств бактериальных эндотоксинов является избирательное действие их на реагирующие системы организма, ответственные за выработку иммунитета [7, 8, 17—20]. Очевидно, поэтому эндотоксины нашли широкое применение как в аналитических исследованиях иммуногенеза, так и в практической иммунологии в качестве средств неспецифического изменения иммунологической реактивности и естественной резистентности организма [1—6, 9, 12, 14, 16].

Исследования подобного рода внесли определенную ясность в понимание биологической сущности иммуногенеза. Вместе с тем они заострили внимание ученых на ряде частных вопросов прикладной иммунологии, требующих неотложного решения. К ним прежде всего относится вопрос о влиянии бактериального эндотоксина на образование противовирусного иммунитета и участии при этом иммунокомпетентных систем организма.

Научно-практическая значимость этого вопроса побудила нас изучить характер действия бактериального эндотоксина на формирование противовирусного иммунитета, а также выяснить участие при этом ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС) и некоторых иммунокомпетентных клеток организма. Повышенный интерес, проявляемый к РЭС, оправдывается тем, что она служит морфо-функциональной основой выработки иммунитета.

Материал и методика. Исследования проводились на ранее (1975) разработанной на белых крысах весом 120—170 г экспериментальной модели вирусной болезни Ауески (псевдобешенство). Бактериальный эндотоксин получали из культуры кишечной палочки по Буавену и Месробяну [15].

Иммунитет у белых крыс вызывался посредством введения им инактивированной гидроокисьалюминиевой вакцины против болезни Ауески животных, изготовленной в Арм. НИИЖиВ. Биологические свойства эндотоксина и вакцины изучались как в отдельности, так и при совместном введении (подкожно), причем эндотоксин вводился в одну, а вакцина—другую заднюю конечность. Спустя 21 день после вакцинации под-

опытные и контрольные животные заражались субдурально безусловно смертельной дозой (Dcl), 0,2 мл, 1:400) эпизоотического вируса Аусеки. Критерием иммунитета служил процент выживших животных, определяемый в течение 15-дневного наблюдения.

Фагоспособность РЭС белых крыс определялась конгорот-пробой по Адлеру и Райману [13] в модификациях Сакаяна [10] и Степаняна [11]. С этой целью крысам инъецировался внутривенно раствор конгорот (0,2%, 0,4 мл/100 г) и в полученных спустя 4 и 30 мин порциях сыворотки крови фотоэлектрокалориметрически (ФЭК) устанавливалась концентрация красителя. Процентное соотношение уровня красителя во второй (30-минутной) и первой (4-минутной) порциях сыворотки крови выражало так называемый конгорот-индекс. Низкий индекс указывал на стимуляцию, а высокий—на угнетение фагоцитарной способности РЭС.

Цитологическими показателями иммуногенеза являлась митотическая активность клеток селезенки и костного мозга, а также плазмоцитарная реакция селезенки. Митотическая активность клеток изучалась принятым в цитологии методом, а плазмоцитарная реакция определялась по Гурвичу и Шумаковой [3] путем подсчета соответствующих клеток в 50-ти полях зрения.

Результаты и обсуждение. Предварительно на белых крысах было установлено, что 15 мг/200 г эндотоксина является безусловно летальной дозой (Dcl, 100%-ная гибель животных за 5 дней), 10 мг/200 г—минимально летальной (Dlm, 70%-ная гибель животных за 5 дней) и, наконец, 3 мг/200 г—относительно безвредной несмертельной дозой. Оттитрована была также минимальная иммуногенная доза (0,5 мл) вакцины, вызывающая образование прочного иммунитета у 60% животных. Во всех дальнейших исследованиях каждая крыса (150—200 г) обрабатывалась 3 мг эндотоксина или 0,5 мл вакцины. Кроме того, было установлено, что подкожное введение эндотоксина синхронно повышает фагоспособность РЭС и митотическое деление клеток почти во все сроки наблюдений (табл. 1). Аналогичная картина отмечалась и при вакцинации животных, с той, однако, разницей, что плазмоцитарная реакция селезенки на инъекцию эндотоксина не изменялась, а на вакцину—заметно активизировалась. Сходные изменения регистрировались и при одновременном применении эндотоксина и вакцины.

Однозначные иммунобиологические эффекты, отмечающиеся в организме под воздействием качественно неоднородных раздражителей (эндотоксин, вакцина), указывают главным образом на то, что объектом их действия являются одни и те же реагирующие системы, и в первую очередь РЭС. Отсюда можно было надеяться на возможность усиления противовирусного иммунитета при сочетанном применении этих раздражителей. Однако проведенные в этом направлении исследования привели к неожиданным результатам. В самом деле, из табл. 2 следует, что применение эндотоксина и вакцины врозь подавляет (выживаемость—20%), а в смеси—полностью устраняет (выживаемость—0%) иммунизирующий эффект вакцины. Между тем введение одной лишь вакцины вызывает образование напряженного иммунитета у 60% животных.

Обобщая полученные результаты, можно с уверенностью сказать, что введение белым крысам эндотоксина или вакцины как отдельно,

Таблица 1

Изменения некоторых показателей иммуногенеза при действии эндотоксина и вакцины на организм

Серия	Условия опыта	Количество животных на		Сроки исследования	Конго-рот-индекс, %	Митотическая активность клеток, %		Число плазмочитов
		фагоцитоз	митоз			селезенки	костного мозга	
1	Норма Инъекция эндотоксина	20	10		49±1,8	0,7±0,05	1,8±0,10	16±2,1
		7	5	3 час.	38±1,2	0,9±0,01	2,6±0,09	16±1,4
			5	1 день	33±1,0	1,0±0,06	3,1±0,30	19±1,0
			5	4 "	39±1,6	1,3±0,06	3,1±0,09	15±1,0
			4	7 "	43±2,4	1,9±0,07	3,3±0,06	16±1,9
3	14 "	54±1,5	1,7±0,09	2,7±0,08	15±1,4			
2	Норма Инъекция вакцины	5	5	3 час.	47±1,5	0,8±0,03	1,6±0,08	14±2,5
			7	1 день	35±1,3	0,9±0,01	1,7±0,09	15±1,8
			7	4 "	30±0,9	1,4±0,9	2,1±0,07	16±1,2
			5	7 "	35±2,1	1,1±0,04	2,8±0,09	21±1,1
			5	14 "	33±1,2	1,2±0,09	2,3±0,05	23±2,1
3	Норма Раздельная инъекция эндотоксина и вакцины	6	5	3 час.	39±1,7	1,5±0,08	2,7±0,08	25±0,9
			5	1 день	43±1,5	0,7±0,06	1,9±0,08	17±1,3
			3	3 час.	36±1,1	1,0±0,02	2,4±0,07	18±1,0
			5	1 день	29±1,0	1,7±0,03	3,7±0,20	20±1,1
			7	4 "	22±1,3	1,3±0,06	4,0±0,21	25±1,4
3	7 "	35±1,7	1,5±0,04	3,5±0,09	28±1,6			
5	14 "	40±1,4	1,7±0,05	2,7±0,10	19±1,2			

Примечание: достоверность разницы варьировала в пределах $P \leq 0,06-0,02$.

так и вместе стимулирует фагоспособность РЭС и митотическое деление клеток. Однако при сочетанном их применении формирование иммунитета ослабляется вплоть до полного его выпадения. Подобная несогласованность показателей иммунологической реактивности организма и образования иммунитета косвенно свидетельствует о том, что фагоспособность РЭС и митотическое деление клеток не принимают непосредственного участия в образовании противовирусного иммунитета.

Что касается угнетающего влияния эндотоксина на выработку иммунитета, то оно, как ранее упоминалось, проявлялось в различных опытах не в одинаковой мере. Причина этого явления, вероятно, заключалась в одномоментном введении эндотоксина и вакцины. Для подтверждения этого предположения и выяснения значения фактора времени в интенсивности проявления указанного явления в очередной серии опытов эндотоксин вводился спустя 7 дней после вакцинации, иначе говоря, в период бурной иммунологической перестройки организма. Но даже в этих условиях последующая инъекция эндотоксина препятствовала образованию прививочного иммунитета (табл. 2, 3-я серия).

Объясняя это явление, можно допустить, что эндотоксин повышает чувствительность вакцинированных животных к вирусной инфекции. И на этом фоне контрольное заражение их обычной смертельной дозой вируса Ауески прорывает выработку поствакцинального иммунитета и животные погибают. Для проверки сделанного допущения в завершающих опытах вакцинированным (4-я серия) и интактным (5-я серия)

Результаты контрольного заражения вирусом Ауески подопытных и контрольных белых крыс

Условия опыта	Общее количество животных			Выживаемость за 15 дней, %
	до	после заражения		
		павших	живых	
1. Вакцина 0,5 мл + эндотоксин 3 мг (раздельно)	15	12	3	20
2. Вакцина 0,5 мл + эндотоксин 3 мг (смесь)	15	15	0	0
3. Вакцина, 0,5 мл, и через 7 дн.—эндотоксин, 3 мг	10	10	0	0
4. Вакцина, 0,5 мл, и за 24 час. до заражения—эндотоксин, 3 мг	15	0	15	100
5. За 24 час. до заражения—эндотоксин, 3 мг	12	0	12	100
6. Контроль, вакцина, 0,5 мл	20	8	12	60
6. Контроль, вирус Ауески	20	20	0	0

крысам эндотоксин вводился за сутки до субдурального заражения их несмертельной дозой (0,2 мл, 1-5000) вируса Ауески. Зараженные таким образом животные не погибали.

Результаты этих опытов свидетельствуют о том, что эндотоксин не обладает свойством повышать чувствительность к вирусу Ауески животных. По-видимому, подавляющее действие эндотоксина на формирование противовирусного иммунитета обуславливается его способностью устранять специфическую информацию, поступающую в иммунокомпетентные системы организма от вакцинного штамма инактивированного вируса болезни Ауески.

Армянский НИИ животноводства и ветеринарии

Поступило 27.XII 1978 г.

**ՌԷԷ-Ի ՎՐԱ ՔԱԿՏԵՐԻԱԿ ԷՆԴՈՏՈՔՍԻՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ
ԵՎ ՀԱԿԱՎԻՐՈՒՄԱՅԻՆ ԻՄՈՒՆԻՏԵՏԻ ԶԵՎԱՎՈՐՄԱՆ ՄԱՍԻՆ**

Է. Գ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Լ. Պ. ԲԵՉԱՆՈՎԱ, Ռ. Հ. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ

Սպիտակ առնետների վրա կատարված հետազոտությունները ցույց տվին, որ աղիքային ցուպիկի (E. coli) և կենդանիների Աուսկի հիվանդության ինակտիվացրած վակցինայի դատ-դատ գործադրումը խթանում է ՌԷԷ-ի ֆագոակտիվությունը և բջիջների միտոտիկ բաժանումը: Սակայն այդ դեպքում խիստ ընկճվում է հակափրոուսային իմունիտետի ձևավորումը:

Ենթադրվում է, որ ՌԷԷ-ի և բջիջների պրոլիֆերացիան հակափրոուսային իմունիտետի զոյացման մեջ անմիջական մասնակցություն չեն ունենում և իմունիտետի վրա էնդոտոքսինի ընկճող ազդեցությունը պայմանավորված է օրգանիզմի իմունոկոմպետենտ համակարգին հասնող հստուկ ինֆորմացիան վերացնելու նրա ընդունակությամբ:

ON THE INFLUENCE OF BACTERIAL ENDOTOXIN ON RES AND FORMATION OF ANTIYIRAL IMMUNITY

E. D. STEPANIAN, L. P. BEDZHANOVA, R. A. PETROSSIAN

Investigations carried out on white rats showed that differential use of *E. coli* endotoxin and inactivated vaccine against Aujeszky's disease (pseudorabies) in animals stimulates phagocytic ability of reticuloendothelial system (RES) and mytotic cell division in single direction. However, the formation of antiviral immunity was sharply depressed.

It is suggested that RES and cellular proliferation don't take direct part in inducing antiviral immunity, and the depressive effect of endotoxin on immunity is conditioned by its ability to eliminate the specific information which the immunocompetent systems of the organism receive from the vaccine.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Адо А. Д. Успехи совр. биол., 55, 2, 239, 1963.
2. Брауде А. И., Вайсберг Г. Е. ДАН СССР, 138, 5, 1195, 1961.
3. Гурвич Г. А., Здродовский П. Ф., Шумакова Г. В. и др. Вестн. СССР, 8, 50, 1964.
4. Ермольева З. В., Вайсберг Г. Е., Афанасьева Т. И. и др. Антибиотики, 6, 46, 1958.
5. Збарский Б. И. Журн. exper. биол. и мед., 1, 176, 1925.
6. Здродовский П. Ф. Вестн. АМН СССР, 9, 86, 1964.
7. Киселев П. Н. Токсикология инфекционных процессов. Л., 1971.
8. Мальцев В. Н. ЖМЭИ, 8, 37, 1968.
9. Плanelьес Х. Х. Вестн. АМН СССР, 7, 86, 1961.
10. Сакарян С. Ш. Докт. дисс., Ереван, 1950.
11. Степанян Э. Д. Лабор. дело, 2, 25, 1963.
12. Учитель И. Я., Коликер И. И. Успехи совр. биол., 58, 86, 1964.
13. Adler H., Relman F. Exp. Medicin, 47, 5-6, Berlin, 1925.
14. Benacerraf B., Sebestyen M. Fed. Proc., 16, 860, 1957.
15. Botvin A. et Mesrobianu L. C. R. S. Biol., 128, 9, 1938.
16. Halpern B., Bioszi G., Howard G. stiffel C. C. R. Soc. biol, 152, 6, 899, 1958.
17. Rubenstein H., Tite J., Coons A. Proc. Soc. Exp. Biol., 111, 468, 1962.
18. Rutenberg S a. Muchael G. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 117, 1, 301, 1961.
19. Schrader W., Woolerey B., Brunning R. Am. J. Path., 44, 597, 1964.
20. Selye H., Tuchweber B., Bertöck L. J. Bact., 91 2, 884, 1966.