

УДК 615.849.5+617—001.28—097

Р. А. ТЕР-ПОГОСЯН, М. Н. ЕНГОЯН, Л. А. КАМАЛЯН

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТОДОВ ЕРНЕ И КАННИНГХАМА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЙ ИММУНОГЕНЕЗА У МЫШЕЙ

В опытах на облученных (600 р) и необлученных мышах проведено сравнение эффективности методов Ерне и Каннингхама. С помощью последнего выявлено достоверно большее число антителообразующих клеток в селезенке облученных и необлученных мышей после иммунизации и реиммунизации. Большая чувствительность и простота метода Каннингхама позволяют рекомендовать его для изучения лучевых поражений иммунитета.

Как известно, классический метод Ерне [13] широко используется в современной иммунологии. Успешно применяют его и для изучения иммуногенеза в условиях облученного организма [1—3, 5—7, 15].

Предложенная Каннингхамом и др. в 1965 г. [9] безагаровая модификация метода Ерне, по данным автора и его последователей, намного чувствительнее классического [4, 10—12, 14, 16]. Однако метод Каннингхама значительно реже применяется в иммунологических исследованиях, а работ с использованием его для изучения лучевых поражений иммунитета в доступной литературе мы вовсе не встретили. В связи с этим представлялось небезынтересным выяснение сравнительной ценности этих двух методов для изучения антителогенеза у облученных животных.

Материал и методы

Опыты были поставлены на белых беспородных мышах. Однократное тотальное облучение в дозе 600 р проводили за 24 часа до введения антигена на аппарате РУМ-11 (напряжение 187 кв, сила тока 15mA, фильтры 0,5 мм меди и 1 мм алюминия, мощность дозы 25 р/мин, кожно-фокусное расстояние 40 см). Бараньи эритроциты вводили внутривенно в количестве 7×10^8 . Повторную иммунизацию проводили спустя 5 дней. Животные были разделены на следующие группы: I группа—иммунизированные (И), II—реиммунизированные (РИ), III—облученные и иммунизированные (О+И), IV группа—облученные и реиммунизированные (О+РИ).

Для постановки реакции использовали селезенку животных, взятую на 4- и 7-й дни как после иммунизации, так и реиммунизации. При постановке реакции Ерне использовали на каждую чашку Петри 3млн се-

лезеночных клеток, 7×10^7 отмытых бараньих эритроцитов, 2,5 мл сухого комплемента морской свинки в разведении 1:10 и специально обработанный агар. Для постановки реакции Каннингхама в предварительных опытах были подобраны оптимальные соотношения используемых в реакции ингредиентов: 5×10^6 клеток селезенки (в 0,01 мл), 0,01 мл неразведенного комплемента и 40—50 тыс. бараньих эритроцитов (также в 0,01 мл). Смесь (0,03 мл) помещали на предметное стекло, сверху накладывали покровное стекло, края которого фиксировали вазелином. Подсчет блешек гемолиза в 50 полях зрения производили после выдерживания препаратов в термостате в течение 45 мин. Каждый опыт сопровождался контролем: 1) препараты, не содержащие комплемента, 2) препараты с клетками селезенки интактных животных.

Одновременно с учетом числа антителообразующих клеток (АОК) по методу Эрне и методу Каннингхама определяли и титры гемолизинов в крови облученных и необлученных мышей.

Результаты и обсуждение

Согласно полученным данным, пик антителообразующих клеток в селезенке необлученных мышей при использовании обоих методов выявляется на 4-й день с момента как иммунизации (I группа), так и реиммунизации (II группа). К 7-му дню отмечается тенденция к снижению числа АОК у животных обеих групп (таблица). Как видно из данных

Таблица

Динамика антителообразующих клеток у мышей при определении методами Эрне и Каннингхама

Группы	Число АОК на 10^6 клеток селезенки			
	метод Эрне		метод Каннингхама	
	дни исследования			
	4	7	4	7
I (И)	$107 \pm 3,8$	$46 \pm 2,4$	$412 \pm 2,2$	$303 \pm 4,6$
II (РИ)	$112 \pm 3,4$	$101 \pm 2,7$	570 ± 1	$421 \pm 1,3$
III (О+И)	$12 \pm 1,8$	$22 \pm 2,2$	$70 \pm 3,6$	$123 \pm 1,1$
IV (О+РИ)	$19 \pm 1,7$	$28 \pm 1,1$	$90 \pm 1,7$	$180 \pm 2,7$

таблицы, у необлученных мышей безагаровый метод (метод Каннингхама) оказался значительно чувствительнее классического (метод Эрне), выявив в среднем в 4—7 раз большее число АОК. Разница в числе АОК, выявляемых методом Эрне и Каннингхама, у необлученных животных на 4-й день после иммунизации была статистически значимой

($P < 0,01$). Бляшки гемолиза у необлученных животных, определяемые методом Каннингхама, представлены на рис. 1а.

В условиях облучения продукция АОК в селезенке при определении обоими методами как у иммунизированных (III группа), так и реиммунизированных (IV группа) животных была резко угнетена во все сроки исследования. Разница в числе АОК у необлученных и облученных мышей на 4-й день после иммунизации (I и III гр.) и реиммунизации (II и IV гр.) была статистически значимой при определении обоими методами. В условиях облучения метод Каннингхама также оказался чувствительнее классического, позволяя выявлять достоверно большее число анти-телообразующих клеток (рис. 1б).

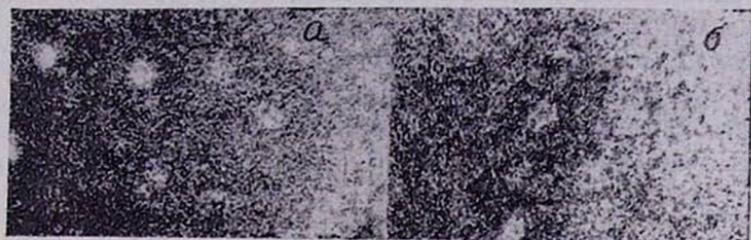


Рис. 1. а. Бляшки гемолиза в селезенке необлученных мышей при определении методом Каннингхама. б. Бляшки гемолиза в селезенке у облученных мышей при определении методом Каннингхама.

Закономерности, установленные в отношении динамики продукции АОК в селезенке облученных и необлученных мышей, были подтверждены результатами исследования уровня гемолизина в крови (рис. 2).



Рис. 2. Уровень гемолизина в сыворотке крови мышей различных групп. Условные обозначения: I—иммунизированные, II—реиммунизированные, III—облученные и иммунизированные, IV—облученные и реиммунизированные.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности успешного изучения динамики образования антителопродуцирующих клеток с помощью не только классического метода Эрне, но и его модификации по Каннингхаму. Более того, последний оказался значительно чувствительнее классического, позволяя выявлять в иммунокомпетентных органах как облученных, так и необлученных животных достоверно большее число АОК.

Особенно целесообразно применение безагарового метода для выявления АОК в условиях облученного организма, где в результате угнетения процессов клеточной пролиферации и дифференциации резко снижается продукция антителосинтезирующих клеток. Высокая чувствительность метода Каннингхама объясняется отсутствием агара, а следовательно, и тех тепловых процедур, которые, отрицательно влияя на жизнеспособность АОК вообще, особенно неблагоприятно действуют на клетки, пораженные радиацией. Помимо высокой чувствительности, преимуществом метода Каннингхама является его простота, экономичность и возможность изучения морфологии гемолизинпродуцирующих клеток.

Сектор радиобиологии МЗ Арм. ССР

Поступила 11/V 1975 г.

Ռ. Ա. ՏԵՐ-ՊՈԳՅԱՆ, Մ. Ն. ԵՆԳՅԱՆ, Լ. Ա. ԿԱՄԱԼՅԱՆ

ԵՆՈՆԵՒ ԿԼԱՍԻԿ ԵՎ ԿԱՆՆԻՆԳ-ՀԱՄԻ ՄԵԹՈԴՆԵՐԻ ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ԱՐԴՈՒՅՆԱՎԵՏՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԿԵՆՐԻ ՄՈՏ ԻՄՈՒՆՈԳԵՆԵԶԻ ՃԱՌԱԳԱՅԹԱՅԻՆ ԱԽՏԱՀԱՐՈՒՄԸ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐԵԼՈՒ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ու ի մ

Աշխատանքի նպատակն է եղել ուսումնասիրել ԵՆՈՆԻ կլասիկ և ըստ նրա Կաննինգհամի մոդիֆիկացված մեթոդների համեմատական արդյունավետությունը ճառագայթահարված և ոչ ճառագայթահարված կենդանիների օրգանիզմում:

Ուսումնասիրությունները կատարվել են ոչխարի էրիտրոցիտներով իմունիզացիայից 24 ժամ առաջ ճառագայթահարված և ոչ ճառագայթահարված մկների մոտ: Ինչպես ճառագայթահարված, այնպես էլ ոչ ճառագայթահարված կենդանիների մոտ ուսումնասիրված երկու մեթոդներից Կաննինգհամի մեթոդը ավելի արդյունավետ է, որի միջոցով կենդանիների փայծախում հակամարմիններ առաջացնող բջիջներ հայտնաբերվել է մի քանի անգամ ավելի շատ, քան ԵՆՈՆԻ կլասիկ մեթոդի դեպքում: Ի դեպ, այդ արդյունավետությունը անհամեմատ ավելի արտահայտված է ճառագայթահարված կենդանիների մոտ: Ստացված արդյունքները թույլ են տալիս իմունիտետի ճառագայթային ախտահարումները ուսումնասիրելիս առավելությունը տալ Կաննինգհամի մեթոդին, որպես ավելի զգայուն և մատչելի եղանակի:

ЛИТЕРАТУРА

1. Карташева А. Л., Петрова И. В. ЖМЭИ, 1968, 6, стр. 155.
2. Клемпарская Н. Н. ЖМЭИ, 1969, 8, стр. 18.
3. Клемпарская Н. Н. Аутоантитела облученного организма. М., 1972.
4. Ковалевский Г. В. Докл. АН СССР, 1967, 172, 3, стр. 709.
5. Николаев А. И., Розгон М. И., Сафаева И. Б., Хакимова М. С., Гаринова Ф. Ш. Радиобиология, 1968, 6, стр. 933.
6. Петрова И. В., Карташева А. Л. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1967, 8, стр. 68.
7. Петров Р. В., Зарецкая Ю. М. В кн.: Радиационная иммунология и трансплантация. М., 1970.
8. Bruce M., Bruce P. J. Immunol., 1968, 101, 5, 860.
9. Canningham A. Nature, 1965, 207, 5001, 1106.
10. Canningham A., Smith J. B., Mercer E. J. Exp. Med., 1966, 124, 4, 701.
11. Edwin M., Uyeki, Robert S. J. Immunol., 1968, 101, 5, 973.
12. Hubner K., Gengozian N. J. Immunol., 1969, 102, 1, 155.
13. Jerne N., Nordin A. Science, 1963, 140, 405.
14. Merchant, Petersen. J. Immunol., 1969, 101, 5, 860.
15. Uyeki E., Klassen R. J. Immunol., 1968, 101, 5, 973.
16. Zaalberg O. B., Vander Meul V., Van Twisk J. Immunol., 1968, 100, 2, 451