

В. А. ШЕКОЯН

ИММУНОГЕННОСТЬ АНТИГЕНА, СВЯЗАННОГО С РНК
И ЛИЗОСОМНЫМИ ФРАКЦИЯМИ МАКРОФАГОВ КРОЛИКОВ
С КООГУЛИРОВАННЫМ ЗАДНИМ ГИПОТАЛАМУСОМ

Проводилось изучение иммуногенности антигена, связанного с лизосомными и РНК фракциями перитонеальных макрофагов кроликов с коагулированным задним гипоталамусом. Полученные данные показывают, что двусторонняя коагуляция заднего гипоталамуса в области заднего и дорсального гипоталамических полей (РНА, ДНА) вызывает уменьшение иммуногенности лизосомных и РНК фракций макрофагов, по сравнению с интактными животными.

Одинаковая иммуногенность лизосомных и РНК фракций макрофагов позволяет высказать предположение, что она обусловлена антигенным материалом, связанным с исследуемыми фракциями перитонеальных макрофагов.

Роль макрофагов в защите организма от чужеродных агентов общеизвестна. В настоящее время можно с уверенностью сказать, что макрофаги участвуют в сохранении постоянства внутренней среды организма, в том числе в неспецифической защите и катаболизме антигена, благодаря наличию высокоразвитого лизосомного аппарата [3]. Хотя сущность участия макрофагов в индукции антителообразования в настоящее время неясна, однако многочисленными работами установлено, что антиген, связанный с РНК [7, 8, 10] или лизосомными фракциями [4] макрофагов, иммуногеннее нативного антигена.

Ранее нами [5, 6] было показано, что коагуляция заднего гипоталамуса вызывает значительное изменение активности одного из протеолитических ферментов лизосом — катепсина Д, влияет на захват и переваривание макрофагами меченых эритроцитов барана и брюшнотифозной вакцины.

В настоящем сообщении приведены данные о влиянии двусторонней коагуляции заднего гипоталамуса на иммуногенность антигена, связанного с РНК и лизосомными фракциями макрофагов.

Методика

Эксперименты поставлены на 48 кроликах весом 2,5—3 кг. Двустороннюю коагуляцию заднего гипоталамуса в области заднего и дорсального гипоталамических полей (РНА, ДНА) производили постоянным током силой 2 Ма в течение 1 мин. Для определения координат пользовались стереотаксическим атласом Сойера и соавт. [13]. В конце исследований производили гистологический контроль величины и локализации повреждений мозга (рис. 1).

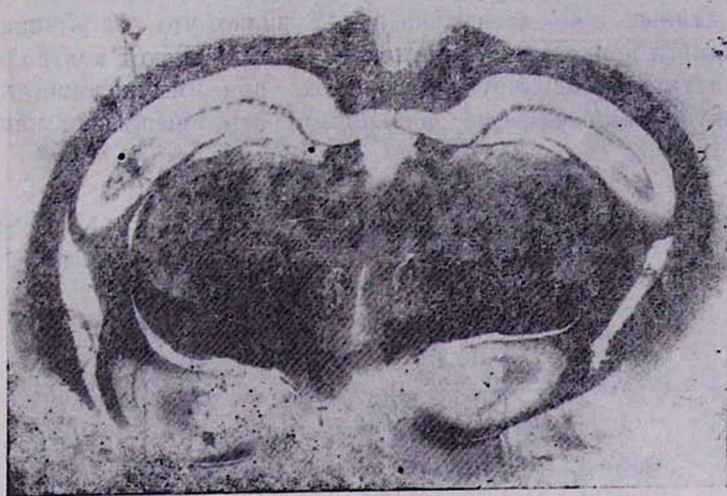


Рис. 1. Очаг деструкции в области заднего и дорсального гипоталамических полей.

Животным-донорам (8 intactных кроликов и 8—с коагуляцией заднего гипоталамуса) вводили внутрибрюшинно по 2 мл 20% взвеси эритроцитов барана.

Через 24 часа после иммунизации животных забивали и получали макрофаги, промывая брюшную полость кроликов, предварительно стимулированных мясо-пептонным бульоном, раствором Хенкса с гепарином. В перитонеальном экссудате животных с коагулированным задним гипоталамусом (опыт) содержалось $3,08 \cdot 10^9$ клеток, а у intactных животных (контроль)— $2 \cdot 10^9$ клеток.

Лизосомные фракции полученных макрофагов выделяли по методу Вейсмана и Томаса [14]. Лизосомная фракция макрофагов опытных кроликов содержала 7,81 мг белка в 1 мл, а контрольных—3,783 мг. Цитоплазматическую РНК выделяли фенольным методом по Георгиеву [1]. РНК фракция макрофагов опытных кроликов содержала 1,03 мг РНК белка, а контрольных—1,4 мг.

Выделенные фракции вводили (лизосомная—по 2,3 мг на кролика, РНК—по 300 γ на кролика) внутрибрюшинно реципиентам (по 5 кроликов на каждую фракцию), ранее иммунизированным 2 мл 20% эритроцитов барана, после того как титры гемагглютининов у них снижались до 1:40 и ниже. Титры гемагглютининов и гемолизинов в сыворотках реципиентов определяли общепринятыми методами на 5-, 7- и 10-й дни после иммунизации.

Определение числа антителопродуцирующих клеток в селезенке реципиентов проводили на 5-й день иммунизации методом Эрне и Нордина [11].

Выводы основаны на статистически достоверных показателях.

Результаты и обсуждение

Из данных, приведенных на рис. 2, видно, что коагуляция заднего гипоталамуса приводит к уменьшению, по сравнению с контролем, количества антителопродуцирующих клеток при иммунизации кроликов-реципиентов исследуемыми фракциями перитонеальных макрофагов.

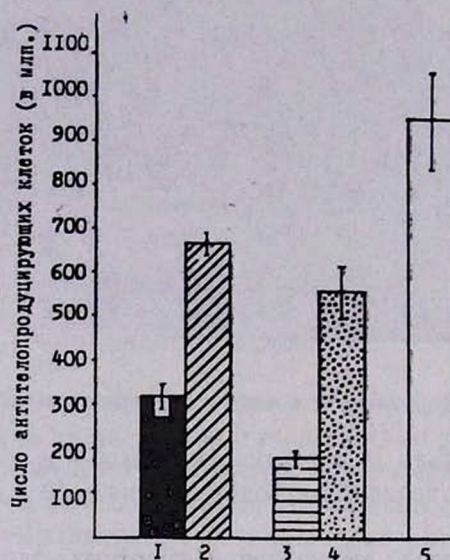


Рис. 2. Число антителопродуцирующих клеток, образовавшихся в ответ на введение лизосомных (1—опыт, 2—контроль) и РНК-фракций (3—опыт, 4—контроль), а также 20% эритроцитов барана (5).

Так, количество антителосинтезирующих клеток на 5-й день иммунизации РНК фракцией контрольных животных (562 ± 62) в 3,3 раза больше, чем у подопытных животных (166 ± 17 , $P < 0,05$), а при иммунизации лизосомными фракциями (675 ± 25) — в 2 раза больше, чем у подопытных животных (325 ± 25 , $P < 0,01$).

Наблюдения за титрами гемолизинов в периферической крови реципиентов показали, что коагуляция заднего гипоталамуса приводит к уменьшению иммуногенности как лизосомных, так и РНК фракций, по сравнению с контролем (рис. 3). При этом максимальные средние титры гемолизинов на 5-й день иммунизации лизосомными (1:192) и РНК (1:320) фракциями макрофагов контрольных животных в 2—2,5 раза превышали их уровень у подопытных животных (1:96, 1:128 соответственно). Необходимо отметить, что снижение иммуногенности исследуемых фракций подопытных животных наблюдалось во все сроки исследования.

Аналогичная картина наблюдалась и с гемагглютинидами, средние титры которых были несколько больше, чем титры гемолизинов. Максимальные средние титры гемагглютининов на 7-й день иммунизации лизосомными (1:213) и РНК (1:426) фракциями контрольных животных в

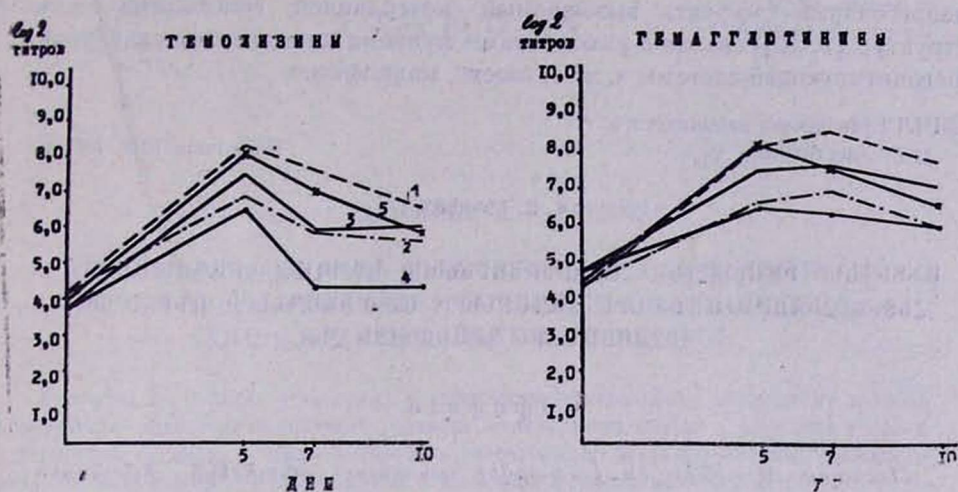


Рис. 3. Иммуногенность РНК (1—контроль, 2—опыт) и лизосомной (3—контроль, 4—опыт) фракций, а также 20% эритроцитов барана (5).

2,6—3 раза больше, чем у подопытных (1:80, 1:133 соответственно), причем, как и при изучении гемолизинов, иммуногенность исследуемых фракций подопытных животных понижалась, по сравнению с контролем, во все сроки исследования (рис. 3).

Таким образом, двусторонняя коагуляция заднего гипоталамуса вызывает уменьшение иммуногенности лизосомных и РНК фракций перитонеальных макрофагов.

В наших опытах лизосомные и РНК фракции перитонеальных макрофагов оказались одинаково иммуногенными, и этот факт позволяет согласиться с мнением Учитель и Хасман [4], высказавшими предположение, что иммуногенность исследуемых фракций обусловлена антигенным материалом, связанным с ними, тем более что, по данным Кона и Хирша [9], лизосомные фракции селезенки практически не содержат нуклеиновых кислот.

Для контроля часть кроликов-реципиентов ревакцинировали 2 мл 20% взвеси эритроцитов барана внутрибрюшинно, чтобы иметь возможность сравнить продукцию антител, вызванную введением нативного и связанного с исследуемыми фракциями антигена. Оказалось, что ревакцинационный эффект от повторного введения эритроцитов барана практически не превышал ответа на введение исследуемых фракций, и это дает нам основание утверждать, что антиген, связанный с РНК или лизосомными фракциями макрофагов, иммуногеннее нативного, ибо его количество, содержащееся в 2,3 мг лизосомной и 300 γ—РНК фракций, намного меньше вводимой дозы нативного антигена. Эти наши наблюдения согласуются с данными других авторов [4, 7, 8, 10].

Обнаруженные нами изменения функции макрофагов, а также уменьшение иммуногенности их лизосомных и РНК фракций при коагуляции заднего гипоталамуса дают основание заключить, что иммуно-

депрессивный эффект, вызываемый коагуляцией гипсталамических структур [2, 12], связан с изменениями функции клеток мононуклеарной фагоцитирующей системы и, в частности, макрофагов.

ЦНИЛ Ереванского медицинского
института

Поступила 10/X 1975 г.

Վ. Ա. ՇԵԿՈՅԱՆ

ԱՆՏԻԳԵՆԻ ԻՄՈՒՆՈԳԵՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԿԱՊՎԱԾ ԿՈԱԳՈՒԼԱՅՎԱԾ
ՀԵՏԻՆ ՀԻՊՈԹԱԼԱՄՈՒՍՈՎ ՃԱԳԱՐՆԵՐԻ ՄԻԿՐՈՖԱԳՆԵՐԻ ՌԵԹ-Ի ԵՎ
ԼԻՋՈՍՈՄՈՅԻՆ ՖՐԱԿՑԻԱՆԵՐԻ ՀԵՏ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հետազոտություններ են կատարվել պարզելու անտիգենի իմունոգեն հատկությունները կապված կոագուլացված հետին հիպոթալամոսով ճազարների պերիտոնեալ մակրոֆագների լիզոսոմային և ՌՆԹ-ի ֆրակցիաների հետ: Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ հետին հիպոթալամոսի երկկողմանի կոագուլացիան հետին և զորսալ հիպոթալամիկ դաշտերի (РНА, ДНА) շրջանում առաջացնում են մակրոֆագների լիզոսոմային և ՌՆԹ-ի ֆրակցիաների իմունոգեն հատկությունների նվազում, ինտակտ կենդանիների համեմատությամբ:

Մակրոֆագների լիզոսոմային և ՌՆԹ-ի ֆրակցիաների միատեսակ իմունոգեն հատկությունները հնարավորություն են տալիս ենթադրելու, որ այն պայմանավորված է անտիգենային նյութով՝ կապված պերիտոնեալ մակրոֆագների հետազոտված ֆրակցիաների հետ:

ЛИТЕРАТУРА

1. Георгиев Г. П. Биохимия, 1959, 3, стр. 472.
2. Корнева Е. А., Хай Л. М. Физиол. ж. СССР, 1967, 1, стр. 42.
3. Учитель И. Я. Ж. микробиол., 1973, 8, стр. 64.
4. Учитель И. Я., Хасман Э. Л. Вестн. АМН СССР, 1969, 10, стр. 28.
5. Шекоян В. А., Хасман Э. Л. Бюлл. exper. биол. и мед., 1973, 8, стр. 93.
6. Шекоян В. А., Хасман Э. Л., Учитель И. Я. Ж. микробиол., 1975, 3, стр. 131.
7. Adler F., Fischman M., Dray S. J. Immunol., 1966, 97, 554.
8. Askonas B., Rhodes I. Nature, 1965, 205, 470.
9. Cohn Z., Hirsch F. J. exp. Med., 1960, 112, 983.
10. Gottlieb A. Science, 1959, 165, 592.
11. Yerne N., Nordln A. Science, 1963, 140, 405.
12. Lee Tyrey, Nalbandov A. Am. J. Physiol., 1972, 222, 179.
13. Sawyer C., Everett J., Green J. J. Comp. Neurol., 1954, 101, 801.
14. Weissman G., Thomas L. J. exp. Med., 1962, 116, 433.