

УДК 616.43/45:612.017.1

Д. А. АГАРОНОВА, М. Б. АВЕТИКЯН, С. А. БАЙБУРТЯН

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОПАРАТИРЕОЗЕ

Изучено влияние экспериментального гипопаратиреоза у крыс на показатели бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) и амебоидной активности нейтрофилов (ППН).

Выявлено изменение клеточной реактивности, проявляющееся активацией РБТЛ и угнетением ППН.

Гормональная регуляция иммуногенеза и обратная сторона этого процесса—роль иммунных реакций в патологии эндокринных желез, привлекают внимание многочисленных исследователей. В этом аспекте наименее изучены паращитовидные железы. Между тем паращитовидные железы, регулируя обмен кальция—важнейшего медиатора в процессе роста и дифференциации клеток, не могут не вносить свои коррективы в формирование иммунитета, в основе которого лежат клеточные кооперации, зависящие от функционального состояния клеточных рецепторов и мембран.

Изложенное явилось предпосылкой для изучения взаимосвязи между функцией паращитовидных желез и некоторыми клеточными показателями иммуногенеза.

В настоящем сообщении приводятся данные о чувствительности лимфоцитов периферической крови крыс к трансформирующему действию фитогемагглютинина (ФГА) и о амебоидной активности нейтрофилов в условиях экспериментального гипопаратиреоза без антигенной стимуляции. Оба эти теста считаются существенным показателем для выявления гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и других видов иммунной перестройки организма [6—8, 10].

Материал и методика

Опыты ставились на беспородных белых крысах весом 100—120 г. Гипопаратиреоз вызывался двусторонней электрокоагуляцией паращитовидных желез. О наступающей гипофункции паращитовидных желез судили по уровню Ca^{2+} в сыворотке крови, определяемого по методу Де-Ваарда. При исходных показателях Ca^{2+} в пределах 10,4—12,8 мг% в случае удачной операции к 5-му дню эти цифры снижались до 5,6—7,6 мг%; на 14-й день показатели были еще низкими. Вос-

становление уровня кальция происходило к 28-му дню. Контролем служили крысы, у которых коагулировались произвольные участки щитовидной железы, и ложнооперированные животные, т. е. крысы, на которых производились все оперативные манипуляции, за исключением коагуляции желез.

Показатели бласттрансформации лимфоцитов и повреждения периферических нейтрофилов определялись в динамике: до операции, на 2-, 5-, 14- и 28-й дни после оперативного вмешательства. РБТЛ ставилась микрометодом в модификации И. И. Копелян и М. П. Григорьевой [3]. Под эфирным наркозом кровь в количестве 5 капель забиралась из аксиллярной вены, вносилась в пенициллиновые флаконы с гепарином, куда быстро добавлялась среда 199 с 15% бычьей сыворотки и ФГА в дозе 0,01 мл на флакон. Параллельно определялась спонтанная способность лимфоцитов трансформироваться в бласты. Процент трансформированных клеток определялся визуально в мазках, окрашенных азур-эозином.

Для определения ППН кровь у крыс бралась из подъязычной вены. Реакция ставилась по оригинальной методике, предложенной В. А. Фрадкиным [8], с докраской мазков на гликоген по Шабадашу. Полученные данные подвергались статистической обработке путем определения критерия Стьюдента и, в отдельных случаях, критерия X.

Результаты

Было установлено, что спонтанная бласттрансформация у интактных крыс в среднем составляла $7,1 \pm 1,07$; при стимуляции ФГА она возрастала до $14,9 \pm 0,64$. Динамика РБТЛ характеризовалась у всех групп оперированных животных интенсификацией процесса как спонтанной, так и стимулированной трансформации лимфоцитов (табл. 1, рис. 1, 2).

На 2-й день после операции чувствительность лимфоцитов к трансформирующему действию ФГА у животных всех групп достигала максимума (у опытных крыс $32, 27 \pm 1,48$, у крыс с коагулированными участками щитовидной железы $34,5 \pm 4,42$, у ложнооперированных $29,66 \pm 2,9$). Возросли и показатели спонтанной бласттрансформации у крыс с гипопаратиреозом и в контрольной группе животных с коагулированными участками щитовидной железы. Спонтанная бласттрансформация у ложнооперированных животных оставалась на исходном уровне. 5-й день у всех животных характеризовался относительно высокими и довольно ровными цифрами РБТЛ.

С 14-го дня намечалась тенденция к ослаблению спонтанной бласттрансформации, а на 28-й день показатели почти нормализовались. Достоверная разница по сравнению с исходными показателями сохранялась только у крыс с гипопаратиреозом.

В указанной серии опытов нам не удалось выявить особого влияния гипопаратиреоза на способность лимфоцитов к бласттрансформации. Анализ РБТЛ не по усредненным показателям, а на отдельных жи-

Таблица 1

Показатели РБТЛ и ППН при экспериментальном гипопаратиреозе

Группы животных	Исходн. показат.			Дни после операции											
	РБТЛ		ППН	2-й			5-й			14-й			28-й		
	РБТЛ			ППН	РБТЛ		ППН	РБТЛ		ППН	РБТЛ		ППН		
	спонт.	стим.			спонт.	стим.		спонт.	стим.		спонт.	стим.		спонт.	стим.
Интактные	7,1 ±1,09	14,9 ±0,64	0,11 ±0,01	спонт.	стим.	ППН	спонт.	стим.	ППН	спонт.	стим.	ППН	спонт.	стим.	ППН
С коагулированными паразитовидными железами	M±m			14,0	32,27	0,156	22,2	27,08	0,05	17,6	28,33	0,047	9,5	21,62	0,046
				2,93	1,48	0,023	2,66	3,06	1,59	—	2,33	0,0125	1,60	2,46	0,03
	Р, интактные			<0,1	<0,01	<0,1>0,05	<0,01	>0,01	>0,1	—	<0,01	<0,05	>0,1	<0,05>0,02	<0,05
	Р, щитовидные			<0,02	>0,1	—	>0,1	>0,1	>0,1	—	>0,1	>0,1	<0,1>0,05	>0,1	—
	Р, ложнопериер.			<0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	—	>0,1	>0,1	<0,01	>0,1	>0,1
С коагулированными щитовидными железами	M±m			24,66	34,5	0,133	22,5	30,87	0,03	19,5	27,5	0,065	6,0	14,33	<0,05
				2,72	4,42	—	2,78	5,04	0,009	2,72	2,58	0,034	1,3	3,19	0,027
	Р, интактные			<0,01	<0,05	—	<0,01	<0,01	<0,01	<0,05	<0,02	>0,1	>0,1	>0,1	0,005
Ложноперированные	M±m			7,5	29,66	0,14	23,08	23,33	0,06	18,0	29,66	0,018	8,0	19,09	0,036
				2,1	2,98	0,026	3,82	0,95	0,018	—	5,46	0,004	0,33	1,64	0,0066
	Р, интактные			<0,1	<0,01	>0,1	<0,01	<0,05	<0,05>0,02	—	>0,1	<0,001	>0,1	<0,1>0,05	<0,01

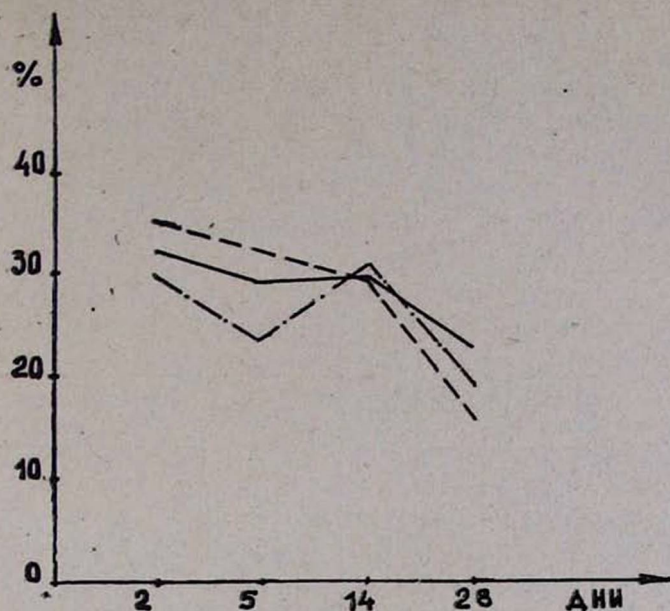


Рис. 1. Показатели РБТЛ при стимуляции ФГА.

— коагуляция паращитовидной железы,
 --- коагуляция щитовидной железы,
 - · - ложнооперированные.

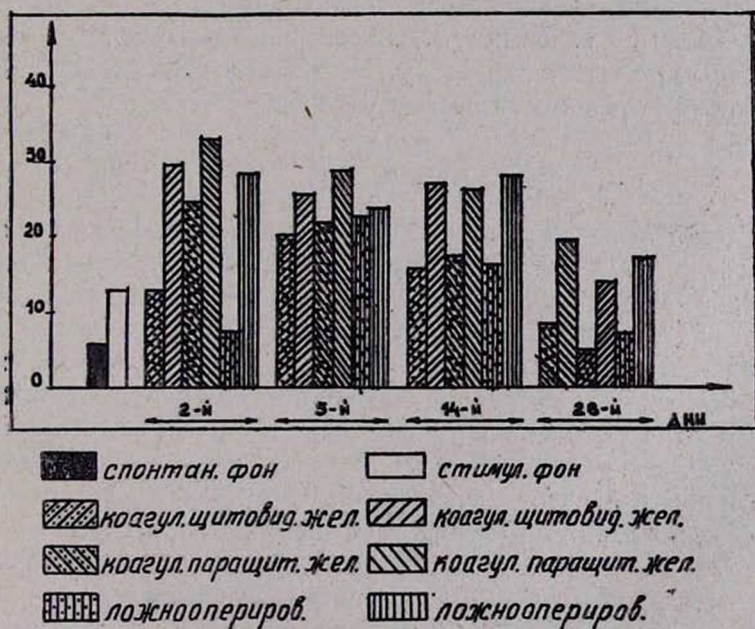


Рис. 2. Показатели спонтанной и стимулированной ФГА РБТЛ

вотных (табл. 2) с учетом уровня Ca^{2+} в сыворотке крови также не внес ясности в этот вопрос.

Динамика реакции ППН была совершенно иной (табл. 1). На 2-й день после операции процент нейтрофилов с амебодной активностью у оперированных животных несколько возрос. Статистически достоверной эта разница по сравнению с исходным показателем была только у крыс с гипопаратиреозом. Разница ППН у контрольных групп животных была незначительной.

Таблица 2

Зависимость РБТЛ от уровня Ca^{2+} в сыворотке крыс с гипопаратиреозом

Ca^{2+} в сыворотке крови, мг/л	Показатели РБТЛ		Состояние крыс при гипопаратиреозе
	спонтан.	стимул.	
7,2	8,0	7,0	судороги
6,0	30,0	38,0	нормальное
7,2	17,0	21,0	нормальное
5,6	17,0	21,0	судороги

Начиная с 5-го дня после операции и до конца наблюдений, имело место стойкое, достоверное (по сравнению с интактными животными) снижение ППН у всех оперированных животных независимо от характера оперативного вмешательства. ППН на 5-й день у крыс с экспериментальным гипопаратиреозом отличался значительным разбросом, но с отчетливым смещением в сторону низких цифр, в связи с чем мы, сопоставляя данные с таковыми у ложнооперированных крыс, прибегли к определению критерия Х. По этому критерию ППН у животных с гипопаратиреозом оказался также достоверно ниже.

Обсуждение

Трактовка наших экспериментальных данных в определенной степени затруднительна, т. к. накопленный в доступной нам литературе фактический материал по изучаемому вопросу пока еще ограничен и противоречив. Так, группа исследователей [2, 10, 12], изучивших иммунные реакции при низких концентрациях Ca^{2+} in vivo и in vitro, создаваемых введением в среду ЭДТА, отмечает явление угнетения РБТЛ и антителообразующих клеток (АОК) в селезенке, нормализующихся при восстановлении уровня Ca^{2+} . При повышении концентрации Ca^{2+} в клетках благодаря активному переносу ионов с помощью ионофоров [13] выявлена стимуляция лимфоцитов.

По данным Edwards с соавт. [11], удаление парашитовидных желез не влияет на титры гемагглютининов и количество АОК в селезенке крыс, иммунизированных эритроцитами барана, но приводит к уменьшению числа митозов в тимусе и костном мозге. Авторы приходят к выводу, что гормон парашитовидной железы играет роль в кле-

точно-опосредованных реакциях иммунитета и не влияет на функцию В-лимфоцитов. Имеются данные, свидетельствующие, что иммунный ответ при экспериментальном гипопаратиреозе зависит от последовательности антигенной стимуляции и коагуляции паращитовидных желез [9]. Swirenga и др. [15] утверждают, что паратгормон ингибирует пролиферацию антигенстимулированных клеток. В то же время Mizutani с соавт. [14] сообщают о выраженном стимулирующем влиянии гипокальциемического фактора, полученного из паращитовидных желез быка, на антителогенез у новорожденных мышей.

Из проведенных нами экспериментов следует, что активация спонтанной и стимулированной РБТЛ у крыс с коагулированными паращитовидными железами не находится в прямой зависимости (в конкретных условиях опыта) от гипопаратиреоза. Однако, учитывая литературные данные, отрицать возможность влияния последнего на бласттрансформацию лимфоцитов было бы ошибочным. Более вероятно, что изменения, вызванные транзитной гипофункцией паращитовидных желез, маскируются сдвигами иммунологической реактивности, обусловленными влиянием операционного стресса, активацией белкового обмена, воспалительными и резорбтивными процессами в ране. Не исключена возможность стимулирующего влияния антигена щитовидной железы, освобождающегося при разгерметизации капсулы в ходе электрокоагуляции [5]. Весьма вероятным является появление в сыворотке крыс с электрокоагулированными паращитовидными железами и с участками щитовидных желез F (ab) фрагментов IgG, обладающих адъювантными свойствами [1]. В пользу этого предположения свидетельствуют данные [4], согласно которым при прижигании паращитовидных желез в печени крыс усиливаются процессы протеолиза за счет повышения активности катепсинов.

Что касается данных по реакции ППН, то наблюдений аналогичного характера в доступной литературе мы не встречали, поэтому попытки объяснить неожиданное для нас стойкое снижение амебоидной активности нейтрофилов у оперированных животных на данном этапе могут быть сугубо умозрительными. Механизм теста ППН изучен далеко не полно, хотя имеющиеся данные говорят об иммунологической природе этого явления [8]. Отчетливо проявляющийся при аллергических процессах тест ППН отчасти зависит от уровня циркулирующих антител комплементарного комплекса и его фракций (C_1 , C_2 , C_3 , C_4).

В связи с тем, что в настоящем сообщении приводятся данные о тесте ППН, полученные на иммунологически интактных животных, мы можем отметить только некоторую корреляцию этого показателя со снижением уровня комплемента и титра лизоцима в послеоперационном периоде в сыворотке у крыс с экспериментальным гипопаратиреозом [9].

Все цитированные выше работы отличаются друг от друга методически, между тем совершенно очевидно, что однотипность экспериментальной модели — основное условие для получения равнозначных результатов. Необходимо проведение дальнейших исследований, накопле-

ние фактов о роли паращитовидной железы в регуляции иммуногенеза, ибо, имея объективный показатель функции паращитовидной железы — концентрацию Ca^{2+} в сыворотке крови, иммунологи получают дополнительную информацию о физической регуляции иммуногенеза и в дальнейшем возможность рационально регулировать иммунный процесс.

ЦНИЛ Ереванского медицинского института

Поступила 22/V 1978 г.

Չ. Ա. ԱՀԱՐՈՆՈՎԱ, Մ. Բ. ԱՎԵՏԻԲՅԱՆ, Ս. Ա. ԲԱԻԲՈՒՐԻԱՆ

ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՀԻՊՈՊԱՐԱԹԻՐԵՈԶԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ԲԶՋԱՅԻՆ ԻՄՈՒՆԻՏԵՏԻ ՄԻ ՔԱՆԻ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐ

Ուսումնասիրված է փորձարարական հիպոպարաթիրեոզի ազդեցությունը արյան լիմֆոցիտների բլաստոտրանսֆորմացիայի (ԼՔՏՌ) ռեակցիայի և նեյտրոֆիլների ամեոբային ակտիվության վրա (ՆՎՑ) առնետների մոտ: Հիպոպարաթիրեոզը առաջացվում է հարվահանաձև գեղձերի երկկողմանի էլեկտրալոսպեկտրալիզով:

Ստուգիչ են ծառայել կենդանիների 2 խումբ, կեղծ վիրահատված և վահանաձև գեղձերի որևէ մի հատվածի կոագուլյացիայով: Ապացուցվել է բլաստոտրանսֆորմացիայի ռեակցիայի ուժեղացումը ինչպես փորձնական, այնպես էլ կեղծ վիրահատված կենդանիների մոտ սկսած վիրահատման 2-րդ օրից մինչև 14-րդ օրը և այդ ցուցանիշի վերականգնումը մինչև 28-րդ օրը:

Վիրահատումից հետո տեղի է ունեցել ստույգ կայուն իջեցում սկսած 5-րդ օրից մինչև հետազոտության վերջը ՆՎՑ-ի վիրահատված կենդանիների բոլոր խմբերում, անկախ վիրահատման բնույթից:

Քննարկվում են հետազոտության արդյունքները:

J. A. AHARONOVA, M. B. AVETIKIAN, S. A. BAIBURTIAN

SOME INDECES OF CELL IMMUNITY IN EXPERIMENTAL HYPOPARATHYREOSIS

Effect of experimental hypoparathyreosis on the indices of blasttransformation of lymphocytes and ameboid neutrophils has been studied in rats. Changes of cell reactivity, manifested by activation of blasttransformation of lymphocytes and depression of ameboid activity of neutrophils are revealed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Евнин Д. Н., Тарханова И. А., Кульберг А. Я. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1976, 4, стр. 328.
2. Козлов В. А., Новикова В. М. ЖМЭИ, 1978, 3, стр. 320.
3. Копелян И. И., Григорьева М. П. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1972, 8, стр. 119.
4. Овсепян Р. С. Ж. эксперим. и клин. мед. АН Арм ССР, 1977, XVII, 4, стр. 47.

5. Саарм В. А. Вопросы эндокринологии, 1970, 2, стр. 177.
6. Свет-Молдавский Т. Я., Черняховская И. Ю. Ж. Всесоюзн. общества им. Менделеева, 1968, XIII, 4, стр. 425.
7. Серов В. В., Кактурский А. В. Архив патологии, 1973, 6, стр. 4.
8. Фрадкин В. А. Аллергодиагностика *in vitro*. М., 1975, стр. 27.
9. Шекоян В. А., Геворкян М. И., Аветикян М. Б. Тез. II Всесоюзн. симпози. Физиология иммунного гомеостаза. Ростов-на-Дону, 1977, стр. 177.
10. Diamanstein T., Ulmer A. J. Immunol., 1975, 28, 121.
11. Edwards D. J. e. a. J. Endocrinol., 1976, 71, 2, 83.
12. Fossard C. e. a. Brit. Med. J., 1977, 1, 6066, 950.
13. Greene Worner C. e. a. Cell. Immunol., 1976, 25, 1, 74.
14. Mizutani Akira C. e. a. Chem. and Pharm. Bull., 1977, 25, 7, 1601.
15. Swirenga S. H. H. e. a. J. Immunol., 1976, 117, 5, part 1, 1608.