УДК 612.015.348

Д. А. АГАРОНОВА, С. А. БАИБУРТЯН, Э. И. ГАСПАРЯН, Т. Л. БАЙРАМЯН

К ХАРАКТЕРИСТИКЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НИКОТИНАМИДГИПОКСАНТИНДИНУКЛЕОТИДА

Изучено влияние никотинамидгипоксантиндинуклеотида на иммунокомпетентные органы белых крыс. Выявлено, что препарат не вызывает в них существенных морфологических изменений, усиливает митотическую активность клеток костного мозга и тимуса, способствует увеличению антителообразующих клеток в селезенке иммунизированных животных.

При изучении биологических свойств никотинамидгипоксантиндинуклеотида (Д-НАД) ранее было обнаружено, что препарат стимулирует бласттрансформацию лимфоцитов крови крыс и, по-видимому, активирует продукцию лимфокинов, таких, как кожно-реактивный (КРФ) и хемотаксический (ХФ) факторы [1].

Настоящее исследование было проведено с целью изучения влияния Д-НАД на митотическую активность клеток костного мозга, тимуса, селезенки и лимфоузлов, возможного выявления адъювантных свойств препарата, а также воздействия Д-НАД на морфологию иммунокомпетентной ткани.

Материал и методы

Опыты проводились на белых крысах массой 120—150 *г*. При изучении влияния Д-НАД на митотическую активность и морфологию иммунокомпетентной ткани Д-НАД вводился внутримышечно по 0,8 *мг*/ /100 *г* массы животного ежедневно в течение 14 и 30 дней. Контрольным животным вводили по 0,5 *мл* физиологического раствора. Забой крыс и исследования проводились на 14 и 30-й дни. Костный мозг вымывали из костномозгового канала бедренной кости физиологическим раствором, а клеточные суспензии тимуса, селезенки и лимфоузлов (паховых, подмышечных, брыжеечных) получали в физиологическом растворе при помощи гомогенизатора Поттера и фильтровали через капроновый фильтр. После центрифугирования осадок обрабатывали подогретым до 37° С 0,075 М раствором хлористого калия и фиксировали метанол-уксусным фиксатором в течение 40 мин. Препараты готовили нанесением клеточной суспензии на охлажденные обезжиренные предметные стекла и окрашивали азур-эозином. Учет митотической активности вели, регистрируя количество митотически делящихся клеток на 1000 ядросодержащих клеток, диаметр которых составлял не менее 15 единиц окулярметра.

Адъювантные свойства Д-НАД определялись на крысах, иммунизированных внутрибрюшинным введением 1 *мл* 8% взвеси эритроцитов барана. Одновременно опытным животным ежедневно в течение трех дней вводился внутримышечно Д-НАД по 0,8 *мг*/100 *г* массы в объеме 0,5 *мл*. Контрольной группе животных в аналогичных условиях иммунизации в течение трех дней внутримышечно инъецировался физиологический

раствор. На четвертые сутки крысы забивались, селезенка использовалась для определения количества ядерных и антителообразующих (АТОК) клеток по реакции Ерне и Нордина.

Титр гемагглютининов определяли в сыворотке крови, взятой из аксиллярной вены, по общепринятой методике в разведениях сыворотки от 1 : 10 до 1 : 2560. Морфологическому исследованию подвергались лимфоузлы, тимус и селезенка. Парафинированные срезы указанных органов окрашивали гематоксилин-эозином и пиронином по Браше. При изучении лимфоузлов учитывалось: проявление активации зародышевых центров, степень выраженности плазмоклеточной метаплазии, показатель активности миграции клеток через лимфоузлы (поступление моноцитов и лимфоцитов в афферентную систему и степень миграции Т-лимфоцитов в паракортикальный слой). Изучение тимуса проводилось путем морфометрии ширины коркового слоя долек его с последующей статистической обработкой полученных показателей, а также на основе обзорной микроскопии. При изучении селезенки, помимо общей морфологии, проводилось определение весовых соотношений органов подопытных и контрольных животных.

Результаты и обсуждение

Результаты влияния Д-НАД на митотическую активность клеток иммунокомпетентных органов отображены на рисунке, из которого видно, что на фоне исходно высокой митотической активности клеток костного мозга (5,8±0,35) и тимуса (7,0±0,75), по сравнению с клетками селезенки (1,5±0,03) и лимфоузлов (3,0±0,37; $P<0,001$), введение Д-НАД значительно усиливает этот процесс в костном мозге и тимусе с четким нарастанием количества митозов в сроки от 14 к 30-му дню: 8,7±0,32—12,3±0,88; 11,3±0,43—16,0±0,97; $P<0,001$. Митотическая активность клеток селезенки и лимфоузлов практически оставалась неизменной. При иммунизации крыс эритроцитами барана в селезенке также не отмечалось нарастания пролиферативных процессов в зависимости от введения Д-НАД: количество ядерных клеток у опытных и контрольных животных оставалось на одинаковом уровне. В то же время число АТОК в селезенке у подопытных крыс отчетливо возросло. Разница в титре гемагглютининов к четвертому дню исследования у подопытных и контрольных животных была незначительной и статистически недостоверной (таблица).

Количественная оценка изученных показателей морфофункционального состояния лимфоузлов в условиях применения Д-НАД при сравнении с контрольными животными не выявила достоверной разницы по всем изученным параметрам.

Сравнение морфологической картины тимуса контрольных животных и животных, получавших Д-НАД, как и сравнение результатов количественной оценки ширины коркового слоя, также не выявило достоверной разницы между результатами, полученными у контрольных животных и после внутримышечного введения Д-НАД. Не выявлено существенной разницы между морфологическими показателями, а также меж-

ду весовыми соотношениями у контрольных и подопытных животных при изучении селезенки.

Таким образом, изучение морфологических и некоторых морфометрических показателей, косвенно отражающих изменение морфофункционального состояния иммунокомпетентных органов, не выявило существенных отклонений от нормы у животных, получавших Д-НАД.

Таблица

Влияние Д-НАД на количество ядерных и антителообразующих клеток в селезенке и титр гемагглютининов в сыворотке крыс

Количество клеток *млн/мл*		Количество АТОК на 1 *млн* ядерных клеток		Титр гемагглютининов	
Контроль	Д-НАД	Контроль	Д-НАД	Контроль	Д-НАД
165±33,15	138±30,56	41,76±11,6	499,2±124,8	34±7,9	41,5±6,6
$P<0,5$		$P<0,01$		$P<0,5$	

При интерпретации полученных данных следует исходить из того, что Д-НАД является коферментом, участвующим в процессе окислительного фосфорилирования [2]. Усиление митотической активности клеток костного мозга и тимуса, по сравнению с селезенкой и лимфоузлами, возможно, обусловлено большей проницаемостью для Д-НАД мембран митохондрий у клеток этих органов.

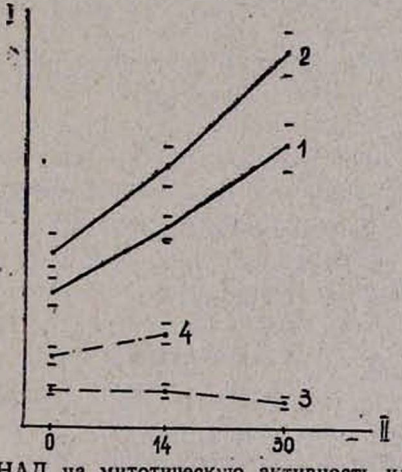

Рис. 1. Влияние Д-НАД на митотическую активность клеток иммунокомпетентных органов. I—число метафаз на 1—10^3 клеток, II—продолжительность введения Д-НАД в днях. 1—костный мозг, 2—тимус, 3—селезенка, 4—лимфоузлы.

Интересно отметить, что Д-НАД, не влияя на пролиферацию клеток селезенки у интактных животных, способствует увеличению в ней числа АТОК у иммунизированных крыс. Это может быть либо результатом проявления «молчащих клеток» вследствие усиления энергетических процессов в антигенстимулированных клетках, либо усиления хелперных

свойств Т-лимфоцитов. Учитывая способность Д-НАД стимулировать продукцию лимфокинов [1] и активировать митотическую активность клеток костного мозга, можно предположить, что увеличение числа АТОК в селезенке иммунизированных крыс является следствием усиления образования в костном мозге стимулятора антителогенеза—В-активина [3].

Для более определенного суждения о механизмах иммунологического воздействия Д-НАД на организм и возможности практического использования его адъювантных свойств необходимо проведение дополнительных исследований.

ЦНИЛ Ереванского медицинского института,
Институт общей гигиены и проф. заболеваний им. Н. Б. Акопяна.

Поступила 28/III 1984 г.

Д. А. АГАРОНОВА, Э. И. ГАСПАРЯН, Т. Л. БАЙРАМЯН, С. А. БАЙБУРТЯН

Դ-ՆԱԴ-Ի ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԲՆՈՒԹԱԳՐՄԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ուսումնասիրված է Դ-ՆԱԴ-ի ազդեցությունը սպիտակ առնետների իմունոկոմպետենտ օրգանների վրա։

Հայտնաբերված է որ դեղամիջոցը չի առաջացնում նրանցում էական ձևաբանական փոփոխություններ, ուժեղացնում է ոսկրածուծի և ուրցագեղձի բջիջների միտոտիկ ակտիվությունը, նպաստում իմունիզացված կենդանիների փայծաղում հակամարմին սինթեզող բջիջների քանակի մեծացմանը։

ON THE CHARACTERISTICS OF BIOLOGICAL PECULIARITIES OF D-NAD

The effect of D-NAD on the immunocompetent organs of albinorats has been studied. It is revealed that the preparation does not cause significant morphologic changes, intensifies the mitotic activity of the bone marrow and timus, increases the quantity of the antibody-forming cells in the spleen of immunized animals.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Агаронова Д. А., Байбуртян С. А., Гаспарян Э. И., Аветикян М. Б.* Ж. экспер. и клин. мед. АН Арм ССР, 1982, XXII, 5, стр. 393.
2. *Бунятян Г. Х., Мовсесян С. Г.* В кн.: Вопросы биохимии мозга АН Арм ССР, т. 2, Ереван, 1966, стр. 5.
3. *Михайлова А. А.* Ж. Всесоюзного хим. общества им. Д. Менделеева, 1982, т. XXVII, 4, стр. 37.