ЕФЕКТИ ЕНДОГЕННОГО ЛІМФОЦИТАРНОГО КЕЙЛОНУ В УМОВАХ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ПІД ЧАС ВИКОРИСТАННЯ ЕКЗОГЕННОГО ЛІМФОЦИТАРНОГО КЕЙЛОНУ

ГАРКАВА К.Г.

Національний медичний університет ім.акад. О.О.Богомольця, м.Київ

Регуляція імунної відповіді організму біологічно активними речовинами є однією із актуальних тем сучасної медицини [2]. Використання біологічно активних речовин хімічного походження не завжди дає бажані результати, тому проблема пошуку речовин природнього походження, що цілеспрямовано впливають на окремі системи організму, не викликаючи небажаних змін в ньому, є актуальною і сьогодні. Відкриття біологічно активних речовин кейлонів - тканиноспецифічних ендогенних інгібіторів клітинної проліферації і також лімфоцитарних [4], дає змогу отримати унікальні фармакологічні засоби. Лімфоцитарні кейлони, можливо, в майбутньому будуть використані для корекції імунологічної реактивності організму при патологічних станах в ньому. Оскільки імунна відповідь організму на антигенне подразнення є відображенням підвищенної напруги імунологічної реактивності організму, то нас цікавило в якій мірі будуть відбуватися зміни у кейлонній системі лімфоїдної тканини при цих умовах. В зв'язку з цим вивчення стану кейлонної системи лімфоїдної тканини організму під час імунної відповіді і в умовах використання екзогенного лімфоцитарного кейлону склало мету наших досліджень.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідах були використані безпородні миші (100 голів). Ендогенний лімфоцитарний кейлон отримували із лімфоцитів селезінки дослідних і контрольних тварин, а екзогенний - із лімфоцитів селезінки інтактних тварин (щурів) методом спиртового фракціювання [7]. Кількість кейлону оцінювали по білку на СФ-16. Екзогенний лімфоцитарний кейлон вводили у дозі 50 мкг/г одноразово з антигенами: 1) еритроцитами барана (ЕБ); 2) ліпополісахаридом E.coli (ЛПС). Ці групи були дослідними. Контрольним тваринам вводили тільки антигени. ЕБ у дозі $4 \cdot 10^8$ клітин внутрим'язево і ЛПС по 0.3 мг підшкірно.

Кількість антитілоутворюючих клітин визначали методом прямого [8] і непрямого Ерне [9].

ДНК-синтетичну активність лімфоцитів визначали методом флуоресційного зондування, використовуючи для цього в якості флуоресційного зонду акридиновий - оранжевий, який у розведенні (1:30000) вносили у проби лімфоцитів контролю і досліду. Проби інкубували у темряві при t-4 ^{0}C 30 хв. Потім їх центрифугували 10 хв при 1500 об/хв. Інтенсивність флуоресценції надосадкової рідини дослідних і контрольних проб вимірювали на спектрофлюориметрі МРР-4 фірми "Hitachi" Японія при λ -530 нм (збудження λ-460 нм). По різниці величин інтенсивності флуоресценції контрольних та дослідних проб до величини інтенсивності контрольної проби оцінювали флуореоценцію дослідного зразку, яку виражали в умовних одиницях [1]. Ендогенний кейлон використовували в дозі 0.5 мг/мл на $1 \cdot 10^6$ клітин.

Статистичну обробку результатів проводили за стандартною методикою за допомогою t - критерія Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДІВ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На 1-у, 3-ю, 5-у добу дослідів у селезінці контрольних і дослідних тварин визначали кількість антитілоутворюючих клітин та рівень продукції лімфоцитарного кейлону, активність якого оцінювали по стану ДНК- синтетичної спроможності аутогенних і ксеногенних лімфоцитів.

Результати впливу екзогенного лімфоцитарного кейлону на імунну відповідь організму на різні по Т-залежності антигени відображені в Таблиці 1. Вони свідчать про ефективність інгібіційного впливу лімфоцитарного кейлону на розвиток імунологічної реактивності організму незалежно від антигену та строку імунної відповіді.

Таблиця 1

Кількість антитілоутворюючих клітин у різні строки імунної відповіді на еритроцити барана (ЕБ) і ліпополісахарід E.coli (ЛПС) під час дії кейлону

Антигени	Строки після імунізації /доба/					
	1-я		3-я		5-а	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ЕБ (еритроцити барана)	50.8±3.0	22.5*±4.8	73.3±4.0	31.8*±2.4	135.8±8.53	67.2*±3.27
ЛПС (ліпопосахарід E.coli)	25.5±2.5	15.0*±1.0	35.46±4.5	22.4±2.8	50.0±2.5	20.1*±1.9

* - різниця з контролем вірогідна, $p<0.05$

Наступним етапом нашої роботи було визначення рівня продукції лімфоцитарного кейлону під час імунної відповіді на різні по Т-залежності антигени та в умовах використання екзогенного лімфоцитарного кейлону. Ці результати відображені у Таблиці 2.

Результати показали, що продукція лімфоцитарного кейлону вірогідно зростала у період індуктивної фази імунної відповіді організму у дослідних і контрольних групах порівняно з нормою. У дослідних групах, в яких для імунізації використовували еритроцити барану, кількість лімфоцитарного кейлону була вірогідно більша ніж у контролі. У період проліферативної фази імунної відповіді кількість кейлону дослідних груп незалежно від антигену, який використовували для імунізації, була на рівні норми. У цей же час кількість кейлону дослідної групи в ЛПС була вірогідно вища порівняно з нормою і контролем. На 5-у добу кількість кейлону у всіх групах достовірно зменшувалась порівняно з нормою. Таким чином, продукція кейлону залежала від строків імунної відповіді і носила фазовий характер.

Таблиця 2

Кількість вилученого кейлону (мг/г) із селезінки мишей в різні строки імунної відповіді

Антигени	Строки після імунізації (доба)					
	1-а		3-я		5-а	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ЕБ (еритроцити барана)	* 24,3±3,69	*,** 45,9±5,7	10,0±0,5	12,61±1,3	* 3,3±0,29	*,** 5,43±0,38
ЛПС (ліпополисахарід E.coli)	* 38,8±1,77	* 39,8±6,6	10,56±1,0	*,** 21,98±3,5	* 2,3±0,33	*,** 4,4±0,36
Норма	10,03±1,08	-	-	-	-	-

* - різниця вірогідна порівняно з нормою, $p<0,05$

** - різниця з контролем вірогідна, $p<0,05$

Після визначення рівня продукції лімфоцитарного кейлону були проведені досліди по оцінці його активності. Як свідчать результати Табл. 3 , на 1-у добу всі отримані кейлони, крім, кейлону 4-ої групи, інгібували ДНК-синтетичну активність ксеногенних лімфоцитів.

Таблиця 3

Інгібуюча активність кейлону, вилученого із селезінки імунних тварин після імунізації еритроцитами барана (ЕБ) і ліпополісахаридом E. coli (ЛПС)

Група тварин	Строки після імунізації (доба)					
	1-а		3-я		5-а	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
	аутогенні лімфоцити	ксеногенні лімфоцити	аутогенні лімфоцити	ксеногенні лімфоцити	аутогенні лімфоцити	ксеногенні лімфоцити
1. ЕБ (контроль)	-	50%	-	10%	50%-63%	40%
2. ЕБ+Кейлон (дослід)	-	50%-75%	-	50%-60%	33%-42%	60%
3. ЛПС (контроль)	-	50%	-	-	60%	20%
4. ЛПС+Кейлон (дослід)	-	-	50%-60%	-	20-32%	10-20%
5. інтактні	50%-70%	50%	50%-70%	50%	50-70%	50%

На 3-ю добу інгібіційна активність по відношенню до ксеногенних лімфоцитів залишалась у кейлонах першої і другої групи і зникала у кейлонів третьої і четвертої групи, хоча кейлон четвертої групи гальмував ДНК-синтетичну активність аутогенних лімфоцитів. Можливо, кейлони тих груп, де вводили ЛПС і екзогенний кейлон та ЛПС (3-я і 4-а групи), мали зміни у своїй будові. Відсутність дії кейлонів першої - четвертої груп на аутогенні лімфоцити, можливо, зумовлена зміною фізико-хімічної структури рецепторів до кейлону, або їх відсутністю на лімфоцитах у період індуктивної фази імунної відповіді організму. Оскільки до дії кейлонів чутливі не всі періоди клітинного циклу, а 81 і 82 фази [3], то, можливо, за рахунок рівного мітотичного циклу [5] інтактних ксеногенних

лімфоцитів та трансформованих аутогенних клітин і реєструється така дія кейлону. На 5-добу кейлони усіх чотирьох груп гальмували ДНК-синтетичну активність аутогенних та ксеногенних лімфоцитів.

Таким чином, активність ендогенного лімфоцитарного кейлону по відношенню до ДНК-синтетичної активності лімфоцитів та його продукція змінювались в залежності від фаз імунної відповіді та Т-залежної природи антигенів, що необхідно буде враховувати в майбутньому при використанні кейлону для корекції порушень імунологічної реактивності організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гаркавая Е.Г., Данова И.В. Флюоресцентное зондирование для оценки эффективности иммуномодуляторов. /Новые физические методы в медицине: Тез.докл.1 Респ.конф.- Ворошиловград, 1990.- С.244-245.

2. Гюллінг Е.В. Принципи і засоби імуномодулюючої фармакотерапії при імунозалежних хворобах// Ліки.- 1998.- № 1.- С.17-25.

3. Кетлинский С.А.Кейлоны как факторы тканевого гомеостаза //Архив анатомии, гистол.и эмбриол.- 1980.- 78, вып.1.- С.29-43.

4. Неустроев Г.В. Роль кейлонов в регуляции пролиферативной активности клеток костного мозга, слюнных желез, тимуса: Автореф.дис.... д-ра мед. наук.- М., 1982.- 48 с.

5. Петров Р.В.,Атауллаханов Р.І.Клеточные мембраны и иммунитет.М.М: Высшая школа, 1991.-144 с.

6. Романов Ю.А., Кетлинский С.А., Антохин А.І., Окулов В.Б. Кейлоны и регуляция деления клеток. М.: Медицина, 1984.- 207 с.

7. Bullough W.S. The ohalones. A review //Nat. Canoer Inst.Monogr.-1973.-v.-38.-№ 1.-P. 5-16.

8. .Jerne N.K. Nordin A.A. Plaque formation in agar by single antibody-producing cells.//Science.-1963.-v.140.- № 3565. -P.405-412.

9. Goding G.M.The ohromi cloride method of coupling antigens to erytrocytes: definition of some important parameters //J. Immunol.Meth.-1976.-l01.-№ 2.-P.61-66.

SUMMARY

THE EFFECTS OF THE ENDOGENIC LYMPHOCYTE CHALONE IN CONDITIONS OF IMMUNE RESPONSE DURING THE APPLICATION OF EXOGENIC LYMPHOCYTE CHALONE

Garkava K.G.

During the development of immune responce in conditions of using of exogenic lymphocyte chalone the production of endogenic chalone depended on terms of immune responce and had a phase character.

The activity of lymphocyte chalone at the inductive and proliferative phases of immune responce of organism with respect to DNA - synthesis- activity of autogenic and xenogenic lymphocytes depended on antigen nature and mitotic activity of stimulated and intact lymphocytes.