

УДК 612.017

ИММУНОЛОГИЯ

В. П. ЕВДАКОВ, член-корреспондент АН СССР В. А. КАБАНОВ,
Е. В. КОЖИНОВА, Р. В. ПЕТРОВ, И. В. САВИНОВА,
Н. А. ФЕДОСЕЕВА, Р. М. ХАЙТОВ, Л. И. ХАУСТОВА

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИАМФОЛИТОВ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ Т и В ЛИМФОЦИТОВ

Среди синтетических полиэлектролитов выявлены вещества, обладающие резко выраженным стимулирующим действием на иммуногенез. Так, было показано, что синтетические полимеры поли-4-винилпиридин (ПВП) и полиакриловая кислота (ПАК) являются мощными стимуляторами иммунного ответа у мышей и крыс (¹, ²). Изучение механизма иммуностимулирующего действия ПВП на разных модельных системах культуры клеток *in vivo* позволило установить, что ПВП и ПАК усиливают пролиферацию и расселение кроветворных стволовых клеток (³), стимулируют миграцию В клеток и кооперацию Т и В лимфоцитов в иммунном ответе к эритроцитам барана (¹, ²). Мы показали также, приступая к настоящему исследованию, что другой ионогенный гомополимер — поли-2-метил-5-винилпиридин (ПМВП), подобно ПАК и ПВП, усиливает эффект взаимодействия Т и В лимфоцитов. Введение мышам внутрибрюшинно водного (рН 4) раствора ПМВП в дозе 50 мг/кг примерно в 3,5 раза увеличивает количество антителопродукторов в селезенке реципиентов Т и В клеток.

ПАК и поливинилпиридины сильно отличаются по своим физико-химическим свойствам: ПАК относится к классу слабых поликислот (pK_a 4,7), растворима в воде при всех рН; при рН 7 ее степень диссоциации составляет около 60%. ПВП и ПМВП — слабые полиоснования; при рН 7 они не растворимы в воде и степень их протонирования близка к 0, однако известно, что поливинилпиридины в присутствии полианионов могут частично заряжаться, образуя с ними полимер-полимерные комплексы, даже в области рН нейтральных растворов (⁴). Механизм стимуляции иммунного ответа поликислотами и полиоснованиями, т. е. полиэлектролитами, столь разными по физико-химическим свойствам, не ясен. Несомненно одно, что стимулирующий эффект в обоих случаях в значительной степени обусловлен усилением процессов клеточного взаимодействия, непосредственного или опосредованного, от которых зависит включение иммуногенеза.

В связи с этим представляло интерес исследовать влияние на взаимодействие Т и В лимфоцитов таких макромолекул, которые содержали бы в одной полимерной цепочке как кислые, так и основные группы, т. е. полиамфоболитов. С этой целью были синтезированы сополимеры 2-метил-5-винилпиридина (МВП) и акриловой кислоты (АК) и изучено их влияние на взаимодействие и пролиферацию Т и В лимфоцитов в культуре *in vivo* при развитии гуморального иммунного ответа на введение эритроцитов барана.

Сополимеры получали радикальной сополимеризацией МВП и АК в растворе метанола в присутствии азобисизобутиронитрила при 60° (эфф-фективные константы сополимеризации: $r_1=0,340\pm0,170$; $r_2=0,190\pm0,107$; M_1 — МВП). Для исследований использовали два сополимера, один из них (СП-1) содержал 34 мол. % звеньев АК, а второй (СП-2) 50 мол. % звеньев

АК. Оба сополимера в водных растворах характеризуются зависимостями приведенной вязкости (η/C) от pH, типичными для полиамфолитов; их изоэлектрические точки лежат соответственно: СП-1 — при pH 6,5; СП-2 — при pH 5,3. При pH 7 оба сополимера растворимы в воде. Среднечисленные молекулярные веса сополимеров были определены в метаноле методом паровой осмометрии на приборе «Hitachi — Perkin — Elmer». Для экспериментов были выбраны сополимеры с близкими молекулярными весами: СП-1 $\bar{M}_n=28\,000$, СП-2 $\bar{M}_n=25\,000$. Полиамфолиты вводили внутривенно мышам в виде 1% водных растворов в дозе 50 мг/кг.

Таблица 1

Влияние СП-1 и СП-2 на выработку антителообразующих клеток в культуре Т и В клеток

Число введенных клеток, 10^{-6}		Препарат, 50 мг/кг	Число реципиентов	Число карионитов в селезенке, 10^{-6}	Число АТОК ($M \pm m$)	
костного мозга	тимуса				на 10^{-6} клеток селезенки	в селезенке
10	—	—	18	$99,6 \pm 2,0$	$0,73 \pm 0,04$	60 ± 2
—	20	—	18	23 ± 1	$1,15 \pm 0,08$	23 ± 2
10	20	—	16	106 ± 3	$10,3 \pm 0,7$	955 ± 66
10	—	СП-1	14	89 ± 2	$0,46 \pm 0,03$	48 ± 2
—	20	СП-1	16	27 ± 1	$0,79 \pm 0,06$	15 ± 1
10	20	СП-1	17	112 ± 3	$2,24 \pm 0,11$	198 ± 10
10	—	—	10	84 ± 3	$0,24 \pm 0,03$	22 ± 3
—	20	—	10	28 ± 2	$1,5 \pm 0,2$	31 ± 4
10	20	—	9	105 ± 5	$1,83 \pm 0,14$	177 ± 15
10	—	СП-2	9	83 ± 4	$0,10 \pm 0,02$	8 ± 1
—	20	СП-2	10	19 ± 1	$1,06 \pm 0,07$	17 ± 2
10	20	СП-2	9	87 ± 7	$0,59 \pm 0,06$	46 ± 5

Влияние сополимеров на взаимодействие Т и В лимфоцитов при выработке антителообразующих клеток (АТОК) к эритроцитам барана исследовали в условиях адоптивного переноса соответствующих клеточных суспензий в культуру *in vivo* ⁽⁵⁾. Для этого летально облученным реципиентам внутривенно трансплантировали $1 \cdot 10^7$ клеток костного мозга (В лимфоциты), $2 \cdot 10^7$ клеток тимуса (Т лимфоциты), либо смесь этих клеток с $2 \cdot 10^7$ эритроцитов барана; одновременно также вводили сополимеры 1 или 2, либо, для сравнения, мономерные аналоги звеньев указанных сополимеров: этилпиридин (ЭП) и пропионовую кислоту (ПК). Количество АТОК в селезенке, свидетельствующее об эффективности взаимодействия Т и В лимфоцитов, определяли спустя 8 дней после трансплантации клеток методом Ерне ⁽⁶⁾. Влияние сополимеров на размножение стволовых клеток, формирующих эндогенные колонии в селезенке сублетально облученных мышей, тестировали методом Тилл и Мак-Кулоха ⁽⁷⁾.

В табл. 1 представлены результаты экспериментов по изучению влияния сополимеров на продукцию АТОК в селезенке реципиентов Т и В клеток. Как видно из табл. 1, в селезенке реципиентов, получивших смесь Т и В клеток, накапливается в несколько раз больше АТОК, чем суммарное число АТОК, образующихся у реципиентов только Т или только В клеток. Это превышение отражает эффект взаимодействия между Т и В клетками. Введение СП-1 и СП-2 реципиентам только Т или только В клеток сопровождается незначительным снижением накопления АТОК. Однако введение сополимеров реципиентам, получившим и Т, и В клетки, приводит к очень существенно уменьшению выхода АТОК, по сравнению с контролем, т. е. практически к полной отмене эффекта взаимодействия Т и В

лимфоцитов. Из табл. 1 также видно, что сополимеры почти не влияют на пролиферацию кариоцитов в селезенке реципиентов, получивших Т, В лимфоциты или их смесь. Общее количество клеток в селезенке не уменьшается. Следовательно, столь значительное уменьшение эффекта взаимодействия Т и В лимфоцитов, наблюдаемое под влиянием сополимеров, нельзя объяснить антипролиферативным, токсическим действием сополимеров. Кроме того из табл. 2 видно, что оба сополимера несколько увеличивают (СП-1 в 1,65, СП-2 — в 1,15 раза) число эндогенных кроветворных колоний в селезенке. Следовательно, оба препарата не обладают антипролиферативным действием, но даже, в какой-то мере, стимулируют процесс размножения стволовых клеток.

Выше уже отмечалось, что гомополимеры ПМВП и ПАК значительно усиливают взаимодействие Т и В лимфоцитов. Как видно, введение со-

Таблица 2

Влияние сополимеров на количество эндогенных селезеночных колоний у мышей (CBA×C57BL)_{F₁}, облученных в дозе 700 р

Вещество	Доза препарата, мг/кг	Число жидкот-ных	Число колоний в селезенке
—	—	30	7,3±0,1
СП-1	50	29	12,0±0,2
СП-2	50	9	8,4±0,3

полимеров, содержащих как кислые (АК), так и основные (МВП) группы в пределах одной полимерной цепи, вызывает противоположное действие. Существенно подчеркнуть, что мономерные аналоги звеньев упомянутых выше гомо- и сополимеров, ПК и ЭП полностью лишены способности вызывать описанные эффекты (табл. 3). Поэтому несомненно, что как эффекты стимуляции, так и эффекты ингибирования в данном случае обусловлены «макромолекулярностью» исследованных агентов. Известно, что одним из проявлений «макромолекулярности» полиэлектролитов является их способность к кооперативному связыванию с противоположно заряженными полиионами и поверхностями (т. е. с частицами, содержащими фиксированные последовательности закрепленных зарядов). При введении полиэлектролитов *in vivo* в качестве таких частиц могут выступать отдельные белки или клеточные мембраны, в частности поверхностные мембраны Т и В лимфоцитов. В отличие от гомополимеров, сополимеры обладают способностью к кооперативному связыванию как с анионогенными, так и с катионогенными макромолекулами, т. е. существенно отличаются от сополимеров (ПАК и поливинилпиридины) широтой спектра кооперативных взаимодействий. Возможно, что именно этим различием обусловлено противоположное биологическое действие полученных гомополимеров и сополимеров.

Таблица 3

Влияние мономерных аналогов сополимеров ЭП и ПК на выработку антителообразующих клеток в культуре Т и В лимфоцитов

Число введенных клеток, 10 ⁻⁶		Препарат, 50 мг/кг	Число реципиентов	Число кариоцитов в селезенке, 10 ⁻⁶	Число АТОК ($M \pm m$)	
костного мозга	тимуса				на 10 ⁻⁶ клеток селезенки	в селезенке
10	20	—	12	169±4	5±0,4	776±63
10	20	ПК	17	172±5	4,4±0,2	683±29
10	20	ЭП	17	117±2	5,3±0,2	663±45
10	—	—	12	130±4	0,31±0,04	29±2
10	—	ПК	17	143±4	0,15±0,1	17±1
10	—	ЭП	18	118±3	0,18±0,1	24±1

Если допустить, что основной пусковой механизм действия сополимеров включает «прикрепление» макромолекул к поверхностной мембране лимфоцита, не исключено, что сополимеры могут отменять взаимодействие Т и В клеток, воздействуя на их поверхностные рецепторы.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
9 VI 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Р. В. Петров, А. Н. Гвоздецкий и др., Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., № 11, 121 (1974). ² Р. В. Петров, Р. М. Хаитов и др., Цитология, т. 17, № 3, 324 (1975). ³ В. П. Евдаков, А. Н. Гвоздецкий и др., ДАН, т. 214, № 4, 970 (1974). ⁴ В. В. Луценко, А. Б. Зезин, А. Ф. Рудман, Высокомолек. соедин., т. Б13, 396 (1971). ⁵ G. F. Mitchell, J. F. A. P. Miller, Transplant. Rev., v. 1, 3 (1969). ⁶ N. K. Jerne, A. A. Nordin, Science, v. 140, 405 (1963). ⁷ J. E. Till, E. A. McCulloch, Radiation Res., v. 18, 56 (1963). ⁸ А. Б. Зезин, В. Б. Рогачева, Успехи химии и физики полимеров, М., «Химия», 1973, стр. 3. ⁹ V. A. Kabanov, Pure and Appl. Chem., Macromol. Chem., v. 8, 121 (1973).