

## ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИИ ТН1- И ТН2-ЛИМФОЦИТОВ ПОСЛЕ СПЛЕНЭКТОМИИ

**Масляков В.В., Киричук В.Ф., Кусмарцева И.Ю., Яфарова И.Х., Барсуков В.Г.**

*ГОУ ВПО «Саратовский государственный военно-медицинский институт», Саратов,  
e-mail: maslyakov@inbox.ru*

В условиях эксперимента на крысах установлена роль селезенки в гуморальных и клеточных реакциях – ее удаление приводит к снижению продукции Th1- и Th2-лимфоцитов и, как следствие, снижению показателей ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4 в организме исследуемых животных. При этом иммунные реакции, связанные с функцией Th1- и Th2-лимфоцитов, после спленэктомии снижаются в равной степени.

**Ключевые слова:** селезенка, спленэктомия, лимфоциты

**Введение.** Селезенка – это основной орган, элиминирующий микроорганизмы из кровотока. Экстирпация ее и операционный стресс увеличивают нагрузку на оставшуюся часть периферической иммунной системы по удалению из кровяного русла различных антигенов, что ведет к нарушениям резистентности организма. После спленэктомии происходит целый комплекс процессов, резко изменяющих не только иммунную резистентность организма, но и систем гемостаза и гемопоэза, что проявляется в развитии различных осложнений [5, 7]. Селезенка относится к периферическим лимфоидным органам. В ней концентрируются супрессорные, хелперные и часть эффекторных клеток, здесь же происходит процесс активного антителообразования и продукция гуморальных медиаторов [3]. В селезенке содержится приблизительно 25% лимфоцитов типа Т и около 60% лимфоцитов типа В [2]. В ней протекают оба этапа дифференцировки антителообразующих клеток из костномозговых предшественников, в то время как для Т-лимфоцитов антигеннезависимый этап дифференцировки из костномозговых предшественников осуществляется в тимусе, а антигензависимый – в селезенке [8, 9, 10]. Сложное строение лимфатических фолликулов селезенки, включающих тимусзависимые, тимуснезависимые и макрофагальные элементы, создает благоприятные условия в органе для

кооперации клеток в иммунном ответе [1]. Известно, что удаление селезенки приводит к потере ряда функций, связанных с иммунной защитой [6]. Однако механизм этих изменений до конца не изучен.

**Цель исследования:** оценка особенностей нарушения функции Th1-, Th2-лимфоцитов (Т-хелперов первого и второго типов) и редукции продуцируемых ими цитокинов (ИФН- $\gamma$ , ИЛ-4) в формировании супрессии гуморальных и клеточных реакций после удаления селезенки.

### Материалы и методы

Исследования проводились на 762 неинбредных белых крысах обоего пола, крысах популяции Wistar и на 77 беспородных белых мышах обоего пола, а также на мышах линии СВА. Масса крыс и мышей составляла соответственно 180–240 и 18–22 г.

В соответствии со стандартами Этического комитета все оперативные вмешательства и эвтаназия производились при обезболивании. Сплениэктомию проводили при верхней срединной лапаротомии, с последующим выведением селезенки на желудочно-селезеночной связке через операционную рану. На селезеночную вену, артерию и некоторые ее ветви (короткие артерии желудка, сальниковые и поджелудочные ветви) накладывались двойные лигатуры, между которыми производилось

пересечение сосудов. Затем пересекались связки селезенки и она удалялась. Операционная рана ушивалась послойно хирургическим шелком и обрабатывалась 5%-м спиртовым раствором йода. Аналогичным способом у контрольных животных проводились ложные операции с имитацией удаления селезенки.

Показатели системы иммунитета оценивали общепринятыми методами в экспериментальной иммунологии [4]. Гуморальную иммунную реакцию к тимусзависимым эритроцитам барана (ЭБ) определяли на 6-е сутки после удаления селезенки по числу антителообразующих клеток (АОК) после спленэктомии с одновременной внутрибрюшной иммунизацией крыс данными антигенами в дозах  $2 \cdot 10^8$  клеток. В используемом тесте гуморальная иммунная реакция на введение ЭБ характеризует способность Th1-лимфоцитов участвовать в продукции В-лимфоцитами (плазматическими клетками) IgM. ОАК к ЭБ, синтезирующие IgG, определяли методом непрямого локального гемолиза в геле через 7 суток. Данные литературы позволяют полагать, что такой метод характеризует преимущественно функцию Th2-лимфоцитов, обеспечивающих синтез IgG1, составляющих около 70% общего числа молекул этого класса.

Активность естественных клеток-киллеров (ЕКК), существенное влияние на которые оказывает ИЛ-2, продуцируемый Th1-типа, определяли по показателю естественной цитотоксичности (ЕЦ) спектрометрически. Формирование гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), характеризующую функцию Th1-лимфоцитов, исследовали у животных по приросту массы стопы задней лапы в %, при этом крыс внутрибрюшинно иммунизировали  $10^8$  ЭБ через 30 минут после операции. Разрешающую дозу ЭБ ( $5 \cdot 10^8$ ) вводили под апоневроз стопы задней лапы через 4 суток. Реакцию ГЗТ оценивали через 24 часа. Для оценки изменения функции лимфоцитов Th1- Th2-типов после спленэктомии с исследованием иммунных реакций

определяли концентрацию продуцируемых ими цитокинов (соответственно ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4) в периферической крови крыс через 4 и 7 суток после иммунизации методом ферментного иммуносорбентного анализа (ELISA), используя наборы (ELISA Kits) фирмы BioSource Int.

Статистическая обработка полученных данных проводилась при помощи непараметрического метода U-критерия теста Mann-Whitney (пакет программ Statistica 6.0).

### Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что в группе животных после спленэктомии через 4 суток происходил гуморальный ответ к Т-зависимому антигену, характеризующему синтез IgM и функцию Th1-лимфоцитов, по сравнению с контрольным уровнем в 1,63 раза ( $p < 0,05$ ), а через 7 суток отмечалась супрессия продукции IgG, отражающая преимущественно функцию Th2-лимфоцитов в 1,43 раза ( $p < 0,05$ ). Кроме того, в группе животных после спленэктомии зарегистрирована существенная редукция активности ЕКК, зависящая от функции лимфоцитов Th1-типа в 1,47 раза ( $p < 0,05$ ) реакция ГЗТ, отражающая функцию Th1-клеток и макрофагов в 1,44 раза ( $p < 0,05$ ).

Показатели, характеризующие различные иммунные реакции и связанную с ними функцию Th1- и Th2-лимфоцитов, после спленэктомии снижались в среднем в 1,53 и 1,46 раза соответственно. Это свидетельствует о том, что удаление селезенки практически в равной степени нарушает функцию Th1- и Th2-лимфоцитов.

Данное заключение подтверждается исследованием концентрации цитокинов в периферической крови крыс, представленные в таблице.

Из данных, представленных в таблице, видно, что в группе животных с удаленной селезенкой отмечается уменьшение концентрации ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4 на пятые сутки соответственно в 1,27 и 1,38 раза ( $p < 0,05$ ), а через семь суток – в 1,33 и 1,40 раза соот-

ответственно ( $p < 0,05$ ). Из этого можно сделать заключение, что удаление селезенки приводит к уменьшению ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4 в равной степени.

Влияние спленэктомии на содержание цитокинов в периферической крови крыс ( $M \pm m$ )

Серии опытов	Время исследования после иммунизации, сут	Исследуемый показатель		
		ИФН- $\gamma$	ИЛ-4	ИФН- $\gamma$ /ИЛ-4
Контроль ( $n = 8$ )		$867 \pm 0,2$	$120 \pm 0,2$	7,3
Спленэктомия ( $n = 10$ )	5	$681 \pm 0,1^*$	$90 \pm 0,5^*$	7,6
	8	$628 \pm 0,3^*$	$86 \pm 0,6^*$	7,3

Примечание: \* – знак статистической достоверности ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем

Как уже указывалось, ИФН- $\gamma$  продуцируют Th1-лимфоциты, а ИЛ-4 – Th2-лимфоциты. Увеличение соотношения ИФН- $\gamma$ /ИЛ-4 характеризует снижение функциональной активности лимфоцитов Th2-типа по сравнению с функцией Th1-клеток, а уменьшение данного соотношения свидетельствует о большей редукции активности лимфоцитов Th1-лимфоцитов по сравнению с Th2-клетками. В результате проведенных исследований установлено, что соотношение ИФН- $\gamma$ /ИЛ-4 после удаления селезенки составило на пятые и восьмые сутки соответственно 7,6 и 7,3 (контроль 7,2). Это подтверждает результаты, свидетельствующие о снижении Th1- и Th2-клеток после спленэктомии в равной степени.

Таким образом, представленные данные показывают, что селезенке принадлежит важная роль в гуморальных и клеточных реакциях, и ее удаление приводит к снижению продукции Th1- и Th2-лимфоцитов и, как следствие, снижению показателей ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4 в организме исследуемых животных. При этом иммунные реакции, связанные с функцией Th1- и Th2-лимфоцитов, после спленэктомии редуцируются в равной степени.

#### Список литературы

1. Агеев А.К. Т- и В-лимфоциты: распределение в организме, функционально-морфологическая характеристика и значение // Архив патол. – 1976. – № 12. – С. 3–11.
2. Барта И. Селезенка. – М.: Медицина, 1976.
3. Виноградов В.В. Гетеротопическая аутолиентрансплантация селезеночной ткани после спленэктомии / В.В. Виноградов, В.И. Денисенко // Хирургия. – 1986. – № 2.
4. Заброцкий П.Ф. Иммунотоксикология ксенобиотиков: монография / П.Ф. Заброцкий, В.Г. Мандрыч. – Саратов: СВИБХБ, 2007. – С. 420.
5. Лебедев Н.В. Диагностика повреждений живота при сочетанной травме / Н.В. Лебедев, М.М. Абакумов, В.И. Малярчук // Хирургия. – 2002. – № 12. – С. 53–58.
6. Шапкин Ю.Г. Селезенка и иммунный статус организма / Ю.Г. Шапкин, В.В. Масляков // Вестник хирургии. – 2009. – № 2.
7. Юнга М.А. Релапаротомия при травмах живота / М.А. Юнга, Е.А. Юрмин, Е.Н. Лабай // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. – 1985. – № 6. – С. 94–97.
8. Musavi M. Function of splenic omental implants in man after traumatic rupture of the spleen / M. Musavi, H.A. Dayem, A. Whitl // The 32 nd World Congress of Surgery. – Sidney, 2007.
9. Okita K. Effect of splenectomy in tumor-bearing and gastric cancer patients / K. Okita, K. Komaga, K. Okaja // Gann. – 2007. – Vol. 680.

10. Vobofil Z. Segmentare resktion der verletzter humanmils / Z. Vobofil // Chirurg. – 1982. – Bd. 53. – № 11.

---

**Рецензенты:**

Гермашев А.Г., д.м.н., профессор кафедры экологии безопасности жизнедеятельности Са-

ратовского государственного социально-экономического университета;

Клинов А.Н., к.б.н., доцент кафедры экологии безопасности жизнедеятельности Саратовского государственного социально-экономического университета.

## FUNCTION CHANGE TH1 – AND TH2-LYMPHOCYTES AFTER THE SPLENECTOMY

**Maslyakov V.V., Kirichuk V.F., Kusmartseva I.J., Jafarova I.H., Barsukov V.G.**

*GOU ВПО «The Saratov state military-medical institute», Saratov,  
e-mail: maslyakov@inbox.ru*

In experimental conditions on rats the lien role in humoral both cellular reactions is established and its excision leads to production depression Th1 – and Th2-limfotsitov and as consequence to depression of indicators IFN –  $\gamma$  and ИЛ-4 in an organism of investigated animals. Thus the immune reactions bound to function Th1 – and Th2- ymphocytes after a splenectomy decrease equally.

**Keywords: a lien, спленэктомия, lymphocytes**