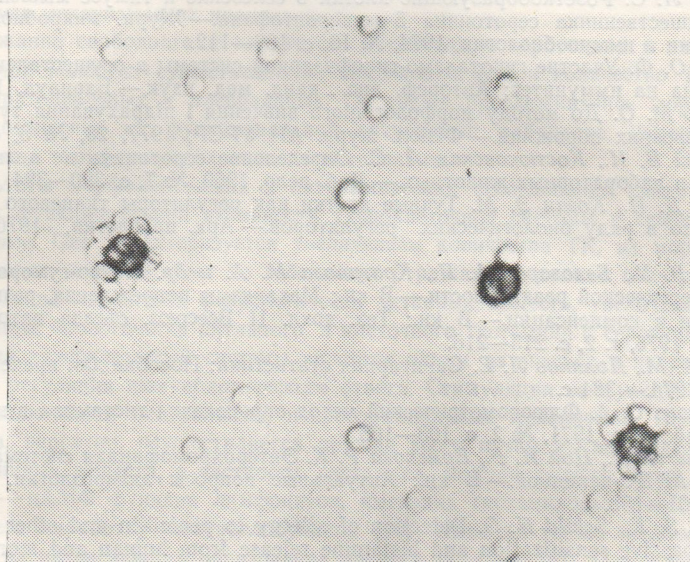


УДК 576.5:612.07.3:612.112.94.017

И. С. Никольский, Ю. А. Гриневиц, В. В. Овсиенко, О. Д. Черненко

СЫВОРОТОЧНЫЕ ФАКТОРЫ ИНГИБИЦИИ И СТИМУЛЯЦИИ ОБРАЗОВАНИЯ МАСТОЛИМФОЦИТАРНЫХ РОЗЕТОК

Обнаружение мембранного сродства между тучными клетками и лимфоцитами проявляющегося *in vitro* формированием мастолимфоцитарных розеток (МЛР) [1, 4], открывает новый подход к изучению этих клеток и роли возможного их контактного взаимодействия, которое, как уже показано нами, претерпевает изменения в процессе онтогенеза, антигениндуцированной дифференцировки и злокачественной трансформа-



Мастолимфоцитарные розетки. Две тучные клетки в контакте с несколькими лимфоцитами.

Микрофото 40×7. Окраска: нейтральный красный.

ции лимфоидных клеток [2, 3]. Однако сейчас трудно сделать заключение о значении отмеченных фактов. Для этого необходимо всесторонне исследовать данный феномен. Настоящая работа посвящена изучению сывороточных факторов, влияющих на формирование МЛР.

Методика исследований

Тучные клетки выделяли из брюшной полости нелинейных крыс посредством центрифугирования суспензии перитонеальных клеток при 400 g в течение 30 мин в градиенте плотности фиколла и верографина ($p=1,077$). Чистота и выход клеток составляли 80—90 %. Тимоциты получали из тимуса нелинейных крыс и мышей обычным методом при разволокнении ткани органа препаровальными иглами в питательной среде. Реакцию образования МЛР проводили по описанной ранее методике [1].

Результаты исследований

В первом опыте 10^6 тимоцитов мышей в 0,1 мл раствора гемоцелл смешивали с 0,1 мл сыворотки крыс интактной или прогретой при 56 °C в течение 30 мин. В половине проб клетки инкубировали при 37 °C в течение 30 мин. Затем часть клеток два раза отмывали от сыворотки раствором гемоцелл и ресуспендировали в этом же растворе. После такой обработки к тимоцитам добавляли 10^4 тучных клеток также ресуспендированных в 0,1 мл раствора гемоцелл. Пробирки центрифугировали при 200 g в течение 5 мин, осадок тут же разбивали осторожным пипетированием, и взвесь клеток вносили в камеру Горяева, где подсчитывали количество тучных клеток, присоединив-

ших три и бол
ставлены в та
во всех вариан
гретой сыворот
наблюдаются в
их в реакцию,

Процент МЛР

Статисти- ческие по- казатели	Конт не об тани клет
M	18,
$\pm m$	1,
n	22
p_1	—
p_2	—
p_3	—
p_4	—

Процент МЛР об

Статисти- ческие по- каза- тели	Контр необр тани клет
M	13,
$\pm m$	2,
n	13
p_1	—
p_2	—
p_3	—
p_4	—

В табл. 2
сывороткой обр
ка стимулирует
в том случае, к
лали, и свежая
как и в предыду
Та же зак
крысиной сывор
timoцитов прог
возрастанию чис
ротку количеств
тая, в 2 раза у
ми крыс во всех

Исследован
ным температур
разрушается пр
обработке сыво
ние при 70 °C, и
при обработке

ших три и более тимocyта (МЛР), на 200 мастоцитов (см. рисунок). Результаты представлены в табл. 1, из которой видно, что обработка тимocyтов свежей сывороткой во всех вариантах опыта приводит к резкому снижению числа МЛР, а добавление прогретой сыворотки — к значительному увеличению их количества. Отмеченные эффекты наблюдаются как при инкубации клеток, так и при практическом немедленном взятии их в реакцию, в том числе и отмытыми от сыворотки.

Таблица 1

Процент МЛР, образуемый тимocyтами мышей, обработанными свежей и прогретой крысиной сыворотками

Статистические показатели	Контроль: не обработанные клетки	Тимocyты+сыворотка				Тимocyты+прогретая сыворотка			
		Без инкубации		Инкубация		Без инкубации		Инкубация	
		Без отмывания	С отмыванием	Без отмывания	С отмыванием	Без отмывания	С отмыванием	Без отмывания	С отмыванием
M	18,1	1,3	4,3	2,8	4,7	41,3	36,7	37,6	34,8
±m	1,9	0,8	1,7	1,3	1,2	5,2	5,0	9,0	4,8
n	22	7	6	6	13	6	11	6	14
p ₁	—	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	<0,01
p ₂	—	—	>0,1	—	>0,2	—	>0,5	—	>0,5
p ₃	—	—	—	>0,5	—	—	—	>0,5	—
p ₄	—	—	—	—	>0,5	—	—	—	>0,5

Таблица 2

Процент МЛР, образуемый интактными тимocyтами мышей и мастоцитами крыс, обработанными прогретой и непрогретой крысиной сывороткой

Статистические показатели	Контроль: необработанные клетки	Мастоциты+сыворотка				Мастоциты+прогретая сыворотка			
		Без инкубации		С инкубацией		Без инкубации		С инкубацией	
		Без отмывания	С отмыванием	Без отмывания	С отмыванием	Без отмывания	С отмыванием	Без отмывания	С отмыванием
M	13,7	1,3	37,3	2,0	41,5	41,3	34,9	42,7	38,7
±m	2,1	0,8	8,3	1,9	9,2	5,2	8,7	11,8	9,9
n	13	7	4	4	8	6	4	3	8
p ₁	—	<0,001	<0,02	<0,001	<0,01	<0,001	<0,05	<0,05	<0,05
p ₂	—	—	<0,01	—	<0,01	—	>0,5	—	>0,5
p ₃	—	—	—	>0,5	—	—	—	>0,5	—
p ₄	—	—	—	—	>0,5	—	—	—	>0,5

В табл. 2 представлены результаты аналогичного опыта с той лишь разницей, что сывороткой обрабатывали не тимocyты, а мастоциты. Как видно, прогретая сыворотка стимулирует формирование МЛР; свежая сыворотка увеличивает их число только в том случае, когда тучные клетки от нее отмывали. В тех случаях, когда этого не делали, и свежая сыворотка могла оказать действие на тимocyты, наблюдалось резкое, как и в предыдущем опыте снижение количества МЛР.

Та же закономерность прослеживалась при обработке масто- и тимocyтов крыс крысиной сывороткой. Результаты представлены в табл. 3. В данном случае обработка тимocyтов прогретой сывороткой, а мастоцитов и прогретой, и свежей приводила к возрастанию числа МЛР примерно на 50 %. При внесении тимocyтов в свежую сыворотку количество МЛР не изменялось. Сыворотка мышей как свежая, так и прогретая, в 2 раза увеличивала число МЛР, формируемое тимocyтами мышей и мастоцитами крыс во всех вариантах постановки опытов.

Исследование устойчивости активных факторов крысиной сыворотки к различным температурам при избирательной обработке тимocyтов показало, что ингибитор разрушается при 56 °С. При 60 °С инактивируется и стимулятор. При избирательной обработке сывороткой мастоцитов оказалось, что стимулятор выдерживает прогревание при 70 °С, инактивируясь при 80 °С. Эти данные свидетельствуют либо о том, что при обработке разных клеток обнаруживаются разные стимуляторы, либо о том, что

стимулятор имеет большее сродство к тучным клеткам. Необходимо отметить, что в сыворотке новорожденных крыс ингибитор отсутствует. Высокую ингибирующую активность в титре 1:8—1:32 проявляет сыворотка человека и морской свинки.

Таблица 3
Процент МЛР, образуемый тимоцитами и мастоцитами крыс, обработанными
прогретой и не прогретой крысиной сывороткой

Статистические показатели	Контроль: необработанные клетки	Тимоциты+сыворотка		Тимоциты+прогретая сыворотка		Мастоциты+сыворотка		Мастоциты+прогретая сыворотка	
		Без отмыывания	С отмыыванием	Без отмыывания	С отмыыванием	Без отмыывания	С отмыыванием	Без отмыывания	С отмыыванием
<i>M</i>	47,2	47,1	46,4	60,61	59,8	47,1	66,4	60,61	64,8
<i>m±</i>	3,8	3,3	4,5	3,9	9,3	3,3	3,5	3,9	4,8
<i>n</i>	13	22	8	22	6	22	6	22	6
<i>p</i>	—	>0,5	>0,5	<0,02	>0,2	>0,5	<0,01	<0,02	<0,02

Таким образом, нами установлено, что в сыворотке различных видов животных присутствуют факторы, ингибирующие и стимулирующие формирование МЛР. Ингибирующая активность сыворотки крыс является термолабильной, проявляет специфичность в отношении тимоцитов, в особенности мышиных, и появляется в процессе постнатального онтогенеза.

Стимулирующая образование МЛР активность более термостабильна, проявляет определенную специфичность в отношении мастоцитов и формируется еще в эмбриогенезе. Общим свойством обеих активностей является быстрота взаимодействия с клетками, свидетельствующая о высоком сродстве изучаемых веществ к мембранам клеток.

Обнаруженное мембранное сродство тучных клеток и лимфоцитов предполагает возможность их кооперативного функционирования, а выявленные в сыворотке активности, блокирующие или усиливающие взаимодействие масто- и лимфоцитов, можно рассматривать как регуляторную систему, значение которой различно у разных видов животных и на разных этапах онтогенеза.

Список литературы

1. Гюллинг Э. В., Никольский И. С., Дюговская Л. А. Масто-лимфоцитарные розетки.— Докл. АН УССР. Сер. Б, 1978, № 9, с. 851—853.
2. Гюллинг Э. В., Никольский И. С., Дюговская Л. А. и др. Контактное взаимодействие масто- и лимфоцитов при онтогенетической, антигениндуцированной дифференцировке и злокачественной трансформации лимфоидных клеток.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1980, № 5, с. 584—585.
3. Никольский И. С., Черненко О. Д., Овсиенко В. В., Синюта Б. Ф. Влияние антигенного и дифференцировочного стимулов на свойство лимфоцитов образовывать масто-лимфоцитарные розетки.— В кн.: Тез. 2-й Респ. конф. молодых ученых-медиков. Львов, 1979, с. 138—139.
4. Gulling E. V., Nikolsky I. S., Dyugovskaya L. A. A study of receptors responsible for the formation of mastocytelymphocyte rosettes.— In: Abstract. XI Int. Congr. of Biochem. Toronto, 1979, p. 538.

Киевский рентгено-радиологический
и онкологический институт

Поступила в редакцию
1.XII 1980 г.