

7. Кольтгофф И. М., Лингейн Д. Дж. Поляграфия. — М.: Гостехиздат, 1948.— 573 с.
8. Лопатина Н. И. Возрастная биохимия.— Л.: Наука, 1978.— 44 с.
9. Сушко Б. С. Автоматизированный метод прижизненного полярографического определения коэффициента диффузии кислорода в ткани // Физiol. журн.— 1988.— 34, № 1.— С. 113—118.
10. Филиппов Л. П. Явление переноса.— М.: Изд-во МГУ, 1986.— 120 с.
11. Фултон А. Цитоскелет: Архитектура и хореография клетки.— М.: Мир, 1987.— 120 с.
12. Хмелевский Ю. В., Усатенко О. К. Основные биологические константы человека в номере и при патологии.— К.: Здоровье, 1984.— 120 с.
13. Шноль С. Э. Физико-химические факторы биологической эволюции.— М.: Наука, 1979.— 263 с.
14. Шноль С. Э., Ермакова Е. А., Франк Г. М. Диффузионные ограничения и эволюционный смысл образования внутриклеточных структур // Методологические и теоретические проблемы биофизики.— М.: Наука, 1979.— С. 90—99.
15. Шошенко К. А., Баранов В. И., Голубь А. С. и др. Органное кровоснабжение и особенности кислородного транспорта в мышцах // Исследования энергетики движения рыб.— Новосибирск: Наука, 1984.— С. 78—115.
16. Bryant S. C., Navari R. M. Effect of plasma proteins on oxygen diffusion in the pulmonary capillaries // Microvasc. Res.— 1974.— 7, N 1.— P. 120—130.
17. Clark D. K., Erdman W., Halsey J. H., Strong E. Oxygen diffusion, conductivity and solubility in the microarea of the brain // Oxygen transport to tissue.— New York: Plenum Publish Comp., 1978.— P. 697—704.
18. Erdman W., Krell W. Measurement of diffusion parameters with nobl metal electrodes // Oxygen transport to tissue.— New York: Plenum Publish Comp., 1976.— P. 225—228.
19. Himmelblau D. M. Diffusion of dissolved gases in liquids // Chem. rev.— 1964.— 64, N 4.— P. 527—550.
20. Jones D. F., Mason H. S. Gradients of concentration in hepatocytes // J. biol. chem.— 253, N 14.— P. 4874—4880.
21. Kazunori K., Nobuji M., Misuzu S. et al. A method for studying oxygen diffusion barrier in erythrocytes: effects of haemoglobin content and membrane cholesterol // J. Physiol.— 1980.— 309, N 7.— P. 569—590.
22. Longmuir J. S., Bourke A. The measurement of the diffusion oxygen through respiration tissue // Biochem. J.— 1960.— 76, N 2.— P. 225—229.
23. McCabe M., MacDougall J. B. Diffusion coefficient of oxygen through tissues // Nature.— 1967.— 215, N 5104.— P. 1173—1174.
24. Morawetz R., Strong L. H., Clark D. K. Effects of ischemia on the oxygen coefficients in the brain cortex // Adv. exp. Med. and Biol.— 1978.— 94.— P. 629—632.
25. Vaupel P. Effect of percentual water content in tissues and liquids on the diffusion coefficients of O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>.— Pflüg. Arch. 1976.— 361, N 3.— P. 201—204.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца  
АН УССР, Киев

Материал поступил  
в редакцию 16.03.90

UDK 576.31:612.112.93/94  
И. С. Никольский, Л. П. Маевская

## Структуры клеточной мембраны, участвующие в мастолимфоцитарном взаимодействии

Ранее мы обнаружили, что плазматические мембранные тучных клеток и лимфоцитов определенного типа, в частности мастоцитоцитарных лимфоцитов (МАЛ), обладают взаимным средством, что проявляется *in vitro* в образовании мастолимфоцитарных розеток (МЛР) [2]. Гомо- и гетероэрритроциты, макрофаги, фибробласти и клетки HeLa розеток с тучными клетками не образуют. В норме у животных МАЛ локализуются главным образом в тимусе [3]. Способность тучных клеток присоединять лимфоциты лишь определенного типа положена в основу метода дифференциальной диагностики гемобластозов [6]. Изложенное позволяет предположить, что образование МЛР происходит в результате взаимодействия мембранных структур лимфо- и мастоцитов, исслед.

© И. С. НИКОЛЬСКИЙ, Л. П. МАЕВСКАЯ, 1991.

дование которых явилось целью работы, а литературные данные о большом вкладе белковых молекул и сиаловых кислот в формирование мембранных структур [1] определили экспериментальный подход.

### Методика

Реакцию образования МЛР ставили по ранее описанной методике [4]. Лимфоциты из тимуса получали разволокнением ткани органа в растворе Хенкса. Жизнеспособность лимфоцитов составляла не менее 90—95 % (по тесту с трипановым синим). Тучные клетки крыс вымывали из перитонеальной полости раствором Хенкса с последующей очисткой в градиенте плотности фиколла — верографина ( $d=1,077$ ) при 400 g в течение 30 мин. Чистота и выход мастоцитов — 80—90 %. Реакцию образования МЛР проводили, смешивая тучные клетки ( $10^4$ ) в 0,1 мл среды 199 с тимоцитами ( $10^6$ ) в том же объеме. Взвесь клеток центрифугировали при 250 g в течение 5 мин, осадок ресуспендировали, тучные клетки подкрашивали на предметном стекле нейтральным красным и суспензию переносили в камеру Горяева. Mastolимфоцитарной розеткой считали ассоциацию клеток, состоящую из тучной клетки, окруженнной не менее, чем тремя тимоцитами. Влияние обработки клеток трипсином (фирма «Spofa», Чехословакия) и нейраминидазой (Горьковский НИИ эпидемиологии и микробиологии) на образование МЛР изучали методом инкубации тимоцитов и мастоцитов в течение 30 мин при 37 °C в 0,05 %-ном растворе трипсина или нейраминидазы в среде 199, удельная активность которой составляла 500, 50 и 5 Ед/мл среды. После инкубации клетки дважды отмывали средой. Контролем служили тимоциты и тучные клетки, инкубированные в таких же условиях в среде 199.

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием критерия t Стьюдента.

### Результаты и их обсуждение

Из приведенных в табл. 1 результатов видно, что обработка тимоцитов раствором трипсина не оказывает влияния на их способность формировать МЛР, в то время как обработка мастоцитов приводит к почти полной утрате их способности образовывать МЛР, что может свидетельствовать о наличии на мастоцитах, ответственных за образование МЛР, белковых структур.

С учетом полученных ранее данных о наличии в сыворотке активности, усиливающей взаимодействие масто- и тимоцитов [5] представляло интерес выяснить, действуют ли эти факторы через трипсинчувствительные структуры. Тимоциты и тучные клетки обрабатывали в течение 5 мин инактивированной (при 56 °C в течение 30 мин) крысиной

Таблица 1. Результаты статистической обработки значений относительного числа (%) mastolимфоцитарных розеток, формируемых тимоцитами и мастоцитами крыс в разных условиях обработки клеток

Статистический показатель	Необработанные клетки (контроль)	Обработанные трипсином				
		тимоциты (мастоциты не обработаны)	мастоциты (тимоциты не обработаны)	и дополнительно инактивированной сывороткой крысы		
				тимоциты (мастоциты не обработаны)	мастоциты (тимоциты не обработаны)	тимоциты и мастоциты
M	35,7	36,8	1,2	46,7	2,2	1,2
±m	1,5	1,5	0,2	2,4	0,4	0,2
n	119	104	75	67	38	40
P <sub>1</sub>	—	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P <sub>2</sub>	—	—	—	<0,002	—	—
P <sub>3</sub>	—	—	—	—	<0,05	—

сывороткой дважды отмытыми. Поэтому замечено, что в этом случае МЛР неизменно, почти всегда, составляет 100 %. Помимо этого, сыворотка с высокой концентрацией нейраминидазы (50 Ед/мл) не влияет на образование МЛР, если обработка клеток проводится в течение 5 мин при 37 °C.

Обработка клеток трипсином (50 Ед/мл, т. е. 100 Ед/мл) приводит к небольшому снижению МЛР в то время как обработка нейраминидазой (5 Ед/мл) не оказывает влияния на него.

Таблица 1. Результаты статистической обработки значений относительного числа (%) mastolимфоцитарных розеток, формируемых тимоцитами и мастоцитами крыс в разных условиях обработки клеток

Статистические показатели

Обработка клеток трипсином в течение 5 мин не влияет на образование МЛР. Обработка клеток нейраминидазой (5 Ед/мл) не влияет на образование МЛР, но снижает его на 10—15 %. Обработка клеток трипсином в течение 30 мин снижает образование МЛР на 10—15 %.

сывороткой после инкубации их в растворе трипсина. Затем клетки дважды отмывали средой 199. Из приведенных в табл. 1 результатов нетрудно заметить, что хотя после обработки тучных клеток сывороткой число МЛР достоверно увеличивается, оно все же остается очень низким, почти таким же, как после обработки клеток одним трипсином. Поэтому можно предположить, что обнаруженные нами ранее сывороточные факторы, стимулирующие образование МЛР, взаимодействуют со структурами мастоцитов, в состав которых входят белки. Следовательно, сыворотка в данном случае проявляет себя не как неспецифическая склеивающая субстанция, а как вещество, связывающееся на поверхности тучной клетки с веществами определенной молекулярной специфичности. По-видимому, и некоторое увеличение числа МЛР после инкубации с сывороткой, обработанных ферментом мастоцитов, можно объяснить неполной утратой структур. Увеличение числа МЛР после обработки сывороткой инкубированных с трипсином тимоцитов, по-видимому, также объясняется сохранностью на них при таком виде воздействия соответствующих структур.

Обработка тимоцитов нейраминидазой удельной активностью 50 Ед/мл, т. е. именно такой ее концентрацией, которая «снимает» с клетки сиаловые кислоты, не вызывая неспецифических эффектов [7], приводит к некоторому снижению их способности формировать МЛР, в то время как инкубация мастоцитов с ферментом не оказывает существенного влияния на образование розеток (табл. 2).

**Таблица 2. Результаты статистической обработки значений относительного числа (%) мастолимфоцитарных розеток, формируемых тимоцитами и мастоцитами крыс, после инкубации клеток с раствором нейраминидазы разной концентрации**

Статистический показатель	Необработанные тимоциты и мастоциты (контроль)	Обработанные ферментом	
		мастоциты (тимоциты не обработаны)	тимоциты (мастоциты не обработаны)
500 Ед/мл нейраминидазы			
M	58,6	44,9	38,7
±m	3,3	2,3	3,9
n	18	18	10
P	—	<0,002	<0,001
50 Ед/мл нейраминидазы			
M	59,3	56,8	50,6
±m	1,5	1,9	1,7
n	113	58	110
P	—	>0,05	<0,001
5 Ед/мл нейраминидазы			
M	63,3	60,4	56,8
±m	4,6	3,4	3,5
n	10	10	10
P	—	>0,05	>0,05

Обработка тимоцитов, инкубированных с раствором нейраминидазы, в течение 5 мин инактивированной крысиной сывороткой стимулирует, как и в предыдущих опытах, образование МЛР —  $(50,6 \pm 1,7) \%$  в контроле и  $(65,6 \pm 3,8) \%$  в опыте ( $P < 0,001$ ), что с учетом сведений о действии сыворотки (см. табл. 1) еще раз подчеркивает сохранность нужных для проявления действия сывороточных факторов структур после «снятия» сиаловых кислот. Инкубация обоих типов клеток с нейраминидазой вызывает выраженное снижение числа МЛР, что вместе с данными о значительном повышении эффекта в отношении обоих типов клеток при увеличении концентрации фермента в 10 раз можно расценивать как свидетельство в пользу некоторого участия сиаловых кислот в формировании изучаемых структур.

Однако, учитывая и то, что сиаловые кислоты выступают в роли экранирующих белковые структуры субстанций, была проведена последовательная обработка тимоцитов нейраминидазой и трипсином. Предположение в значительной мере подтвердилось, что позволило использовать этот подход для выявления «замаскированных» МАП (табл. 3).

Обработка нейраминидазой лимфоцитов, полученных из лимфатических узлов, селезенки, костного мозга и лимфоцитов периферической крови, показала, что при этом только клетки лимфатических узлов приобретают способность к более чем двукратному увеличению числа МЛР. Это может служить указанием на преимущественное среди периферических лимфоидных образований расселение МАЛ у крыс в лимфатические узлы, в которых происходит укрытие сиаловыми кислотами структур, взаимодействующих с тучными клетками.

Таблица 3. Результаты статистической обработки значений относительного числа (%) мастолимфоцитарных розеток, формируемых мацтоцитами и тимоцитами крыс, после последовательной инкубации клеток с раствором нейраминидазы и трипсина

Статистический показатель	Тимоциты и макрофаги, не обработанные (контроль)	Тимоциты, обработанные нейраминидазой (макрофаги не обработаны)	Тимоциты, обработанные нейраминидазой, затем трипсином (макрофаги не обработаны)
M	61,0	53,8	43,2
$\pm m$	2,5	3,5	3,7
n	25	25	25
$P_1$	—	>0,1	<0,001
$P_2$	—	—	<0,02

Таким образом, нами установлено, что мембранные структуры двух типов клеток, формирующих МЛР, различны. Структуры тучных клеток имеют главным образом белковую природу, так как обработка их трипсином приводит к почти полной потере способности мастоцитов образовывать МЛР. О химической структуре плазматической мембраны тимоцитов, обуславливающей их сродство к тучным клеткам, сделать заключение не представляется возможным, хотя ясно, что белки и сиаловые кислоты принимают определенное участие в ее формировании.

I. S. Nikolsky, L. P. Maievskaya

## CELL MEMBRANE STRUCTURES PARTICIPATING IN THE MASTOLYMPHOCYTE INTERACTION

Membrane structures of the mast cells are mainly of protein nature, since trypsin treatment causes almost complete loss of mast cell ability to form rosettes. Trypsin-sensitive proteins have no critical role in the formation of membrane thymocytes structures, which cause their affinity to the mast cells. Sialic acids play a role in organization of the membrane thymocyte structures.

Research Institute of Oncology, Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kiev

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бронз Б. Д. Т-лимфоциты и их рецепторы в иммунологическом распознавании.— М., 1987.— 372 с.
  - Гюллинг Э. В., Никольский И. С., Дюговская Л. А. Мастолимфоцитарные розетки // Докл. АН УССР. В.— 1978.— № 9.— С. 851—853.
  - Никольский И. С. Мастоцитоффинные лимфоциты // Там же. Б.— 1981.— № 7.— С. 74—76.
  - Никольский И. С., Гриневич Ю. А., Овсиенко В. В., Черненко О. Д. Факторы, влияющие на реакцию образования мастолимфоцитарных розеток // Иммунология.— 1981.— № 5.— С. 90—92.

5. Никольский И. С., Г  
факторы, ингибирую  
зеток // Физиол. журн.  
6. Никольский И. С., М  
фоциты как индикат  
кология.— 1986.— №

Киев. науч.-исслед. ин-  
М-ва здравоохранения

УДК 616—056.3:612.12.94

Ю. К. Башмаков, Т. В.

## Роль тканевых секреторной акт

Скептическое отношение новых базофилов к немедленного типа ми о роли тканевых аминов и гематомых тканевыми базофилами (24—72 ч) фактор, лейкотриеновая активность тканевых базофилов нуклеаров, рост коагулогенного воспаления [2].

Секреторный гко временным фактическим этапом лиганд-рецепторов к иммуноглобулинным агонистам нанесения, то секреция соотношением тканей. Механизмы межклеточных медиаторов на реактивность при аллергии индукторов бронхоспазма веолярном пространстве (тканевые цитокины).

Патогенетически дегидрогеназы, кислород как и значение метаболических базофильных тканевыми базофильными лелизма между связь из базофильности к регуляции, ваяющей неконтролируемое развитие эмфиземы [11], свидетельствуя базофилов, опосредованное

В статье пред-  
взаимодействий в

88

- в роли последовательного участия в развитии опухоли. Влияние макрофагов на тканевые базофилы и их роль в регуляции иммунологической активности макрофагов. Тезисы докторской диссертации. Краснодар, 1990.
5. Никольский И. С., Гриневич Ю. А., Овсиенко В. В., Черненко О. Д. Сывороточные факторы, ингибирующие и стимулирующие образование мастолимфоцитарных розеток // Физиол. журн.—1982.—28, № 5.—С. 620—622.
  6. Никольский И. С., Мазуренко В. А., Гриневич Ю. А. и др. Мастоцитоффинные лимфоциты как индикаторные клетки некоторых форм гемобластозов // Эксперим. онкология.—1986.—№ 1.—С. 25—26.

Киев. науч.-исслед. ин-т онкологии  
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил  
в редакцию 26.01.90

УДК 616—056.3:612.12.94

Ю. К. Башмаков, Т. В. Сидоренко, Л. А. Дюговская

## Роль тканевых базофилов в регуляции секреторной активности макрофагоцитов

Сkeptическое отношение современных исследователей к значению тканевых базофилов в патогенезе поздней фазы аллергических реакций немедленного типа [7] предопределено традиционными представлениями о роли тканевых базофилов как продуцентов биологически активных аминов и гепарина [1]. Однако спектр медиаторов, секреции которых тканевыми базофилами в поздней стадии их иммунологической активации (24—72 ч), более разнообразен — тромбоцитактивирующий фактор, лейкотриены, простагландины и тромбоксаны [13]. Биологическая активность свойственна также цитоплазматическим гранулам тканевых базофилов, экзоцитоз которых стимулирует хемотаксис мононуклеаров, рост коллагеновых волокон и сосудов в очаге гиперergicеского воспаления [21].

Секреторный профиль тканевых базофилов определяется не только временным фактором, но и клеточным микроокружением [8]. Если этап лиганд-рецепторного взаимодействия, в частности Fc-рецепторов к иммуноглобулину Е (Fc<sub>E</sub>R) тканевых базофилов с комплементарными агонистами, по-видимому, независим от клеточной контаминации, то секреция медиаторов в смешанных культурах определяется соотношением тканевых базофилов и кокультивируемых клеток [14]. Механизмы межклеточной кооперации находят выражение в биосинтезе медиаторов на уровне целостного организма. Бронхиальная гиперреактивность при атопиях рассматривается [5] как следствие действия индукторов бронхоспазма, синтезируемых в ткани легкого и бронхоальвеолярном пространстве «патологической» системой клеточной кооперации (тканевые базофилы, макрофагоциты, нейтрофильные гранулоциты).

Патогенетическая роль ферментов тканевых базофилов — лактатдегидрогеназы, кислой, нейтральной и химотрипсинподобной протеаз, как и значение межклеточных взаимодействий в секреции ферментов тканевыми базофилами, остаются неизученными. Однако факты параллелизма между скоростью секреции гистамина и лактатдегидрогеназы из базофильных гранулоцитов [16], предположения об их причастности к регуляции системы: протеолиз — антипротеолиз, обеспечивающей неконтролируемую ферментацию альвеолярных структур и развитие эмфиземы легких в исходе бронхоструктивных заболеваний [11], свидетельствуют о существовании неизвестных функций тканевых базофилов, опосредуемых их ферментативной системой.

В статье представлены результаты изучения роли межклеточных взаимодействий в аллергениндуцированной секреции фермента лейкотриена С4 из тканевых базофилов.

© Ю. К. БАШМАКОВ, Т. В. СИДОРЕНКО, Л. А. ДЮГОВСКАЯ, 1991