

Г. В. КОВАЛЕВСКИЙ

## ВЛИЯНИЕ АЦЕТОАЦЕТИЛИРОВАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ НА ОБРАЗОВАНИЕ КЛЕТОК МОТТА ПРИ ИММУНИЗАЦИИ

(Представлено академиком Д. К. Беляевым 23 IX 1974)

Нами было показано (<sup>1, 2</sup>), что, вопреки существующему мнению (<sup>3-6</sup>), клетки Мотта — плазматические клетки, содержащие русселлевские тельца, — не являются формой старения и дегенерации обычных плазмоцитов, так как при иммунизации они предшествуют зрелой плазмоклеточной реакции в лимфоидных органах, а экспоненциальный прирост их происходит за счет митотического деления самих клеток Мотта. Несостоятельной оказалась и другая точка зрения (<sup>7-9</sup>), что клетки Мотта — это особый способ эскреции плазмоцитами иммуноглобулинов. В действительности же, клетки Мотта не экскретируют ни гамма-глобулины, ни антитела, но на некоторых иммунологических моделях, в частности при первичной реакции крыс на БЦЖ, они составляют единственный признак включения В-лимфоцитов в специфический гуморальный ответ (<sup>10, 11</sup>). Поскольку в последнем случае у животных чрезвычайно рано развивается туберкулиновая аллергия, а гуморальные антитела не обнаруживаются несмотря на присутствие антителосодержащих клеток Мотта, мы пришли к выводу, что клетки Мотта представляют собой аномальный клон антителопродуцентов, функция которого репрессирована вскоре после запуска синтеза антител в результате конкуренции между гиперчувствительностью замедленного типа и гуморальным иммунитетом.

Однако данное предположение основано главным образом на изучении модели первичной сенсибилизации крыс БЦЖ, когда гиперчувствительность замедленного типа доминирует, а гуморальный иммунитет полностью подавлен. Поэтому наша гипотеза нуждается в проверке на принципиально иной модели, где, наоборот, доминировал бы гуморальный иммунитет, а гиперчувствительность замедленного типа была бы угнетена. Классической моделью такого рода является иммунизация ксеногенными эритроцитами. Недавно Паришу (<sup>12</sup>) путем ацетоацетилирования эритроцитов удалось вызвать конверсию иммунологического ответа и получить у крыс наряду с сывороточными антителами реакции гиперчувствительности замедленного типа. В данной работе мы воспользовались этой моделью, чтобы проследить, будет ли усиливаться процесс трансформации в клетки Мотта по мере появления у крыс гиперчувствительности замедленного типа на модифицированный антиген, который в пассивном состоянии способен индуцировать только гуморальный иммунитет. Другими словами, действительно ли образование клеток Мотта отражает конкуренцию между клеточным и гуморальным иммунитетом, как это нам представляется при изучении модели сенсибилизации крыс БЦЖ (<sup>10, 11</sup>).

Опыты ставились по методике Париша, но вместо эритроцитов барана использовались резус-отрицательные эритроциты О группы человека, которые вызывают у крыс образование главным образом гемоглобулинов, без существенной продукции гемолизинов (<sup>13</sup>), что, по сравнению с иммунизацией эритроцитами барана, упрощает учет гуморального ответа. Ацетоацетилирование проводилось в течение 1 часа  $5 \cdot 10^{-3}$  M концентрацией ацетоуксусного ангидрида с полным соблюдением рекомендаций Париша.

Было взято 48 крыс линии Вистар, половина из которых получила внутрибрюшинно по  $3 \cdot 10^8$  ацетоацетилированных эритроцитов, а другая половина — ту же дозу нормальных (контроль). Животные обескровливались под эфирным наркозом, одновременно по 3 крысы из каждой группы, с интервалами в 12 час. на протяжении 1,5–5 суток иммунизации. Крысы, забитые на 5-е сутки, за 24 часа до умерщвления тестировались внутрикожно  $10^7$  эритроцитов в 0,1 мл физиологического раствора для выявления гиперчувствительности замедленного типа. Сыворотки всех животных исследовались реакцией гемагглютинации.

Таблица 1

Цитокинетика клеток Мотта и динамика гемагглютининов у крыс, иммунизированных ацетоацетилированными эритроцитами человека

Продолжительность, сутки	Клетки Мотта		Лог <sub>2</sub> титра антител		Продолжительность, сутки	Клетки Мотта		Лог <sub>2</sub> титра антител	
	опыт	контроль	опыт	контроль		опыт	контроль	опыт	контроль
1,5	6,5±1,9	1,2±0,6	1,3±0,3	1,0±0,0	3,5	38,3±7,5	13,9±2,5	2,3±0,3	5,0±1,1
2	0,8±0,3	7,5±1,7	2,0±0,6	1,3±0,3	4	5,5±1,3	2,7±0,7	2,7±0,3	7,7±1,4
2,5	15,4±7,4	1,8±0,3	2,3±0,3	2,0±0,0	4,5	6,8±2,1	1,8±0,2	5,0±0,6	8,0±2,0
3	17,6±7,7	2,1±0,6	1,7±0,3	2,3±0,3	5	1,2±0,1	1,8±0,3	8,0±1,1	10,0±0,0

Полуколичественная оценка цитокинетике трансформации в клетки Мотта производилась путем серийного изучения парафиновых срезов лимфатических узлов и селезенки после обработки реактивом Шиффа с докраской гематоксилин-оранжем. Определялось среднее количество клеток на площади  $0,0625 \text{ мм}^2$  среза. Обычно у каждой крысы изучалось около 20 лимфатических узлов (узлы средостения и 4 группы узлов брюшной полости). За показатель реакции принималась средняя величина ее у трех животных опытной или контрольной группы на соответствующий срок забоя.

Иммунизация ацетоацетилированными эритроцитами вызвала у крыс более интенсивную трансформацию в клетки Мотта, чем введение нормальных эритроцитов (табл. 1). На пике (3,5 суток) различия составляли  $38,3 \pm 7,5$  против  $13,9 \pm 2,5$  ( $P < 0,05$ ). Они были статистически более значимы при суммарной оценке реакции в лимфоидной ткани за весь период наблюдения:  $92,1 \pm 6,6$  против  $32,9 \pm 1,3$  в контроле ( $P < 0,001$ ). Усиление образования клеток Мотта у опытных крыс сопровождалось некоторым отставанием титра гемагглютининов. Так на 4-е сутки лог<sub>2</sub> титра в опыте был  $2,7 \pm 0,3$  против  $7,7 \pm 1,4$  в контроле ( $P < 0,05$ ).

С сыворотками животных, забитых на 5-е сутки, проверялось сохранение антигенности химически модифицированных эритроцитов путем параллельной постановки гемагглютинации с нормальными и ацетоацетилированными клетками. Оказалось, что в рядах, где тестирование проводилось ацетоацетилированными эритроцитами, уменьшение титра антител было непостоянным и не превышало одного разведения. Следовательно, химическая обработка мембран эритроцитов практически не затрагивала их антигенные детерминанты. Поэтому мы полагаем, что изменение характера иммунологического ответа (усиление образования клеток Мотта, задержка продукции гемагглютининов) у крыс, иммунизированных ацетоацетилированными эритроцитами, было связано с модификацией не детерминант, а носителя. Последний, как известно, является определяющим фактором в индукции гиперчувствительности замедленного типа. Качественная гистологическая оценка кожных реакций показала, что у крыс,

иммунизированных ацетоацетилованными эритроцитами, инфильтрат был представлен в основном малыми лимфоцитами и мононуклеарами, тогда как в контроле — преимущественно гиперсегментированными и распадающимися полинуклеарами. Таким образом, у опытных крыс наряду с временным угнетением гуморального иммунитета имела место гиперчувствительность замедленного типа.

Результаты настоящих опытов подтверждают наши прежние данные, полученные на модели БЦЖ, в том смысле, что для массивной трансформации в клетки Мотта возникновение гиперчувствительности замедленного типа является обязательным условием. Наличие слабой реакции на нормальные эритроциты в общем не противоречит этому положению, поскольку в принципе эритроциты, как и все тимус-зависимые антигены, в индуктивный период иммуногенеза, по-видимому, запускают обе реакции — и клеточную, и гуморальную. Не случайно в свое время они рассматривались как две обязательные стадии единого иммунологического ответа (14). Однако между клеточным и гуморальным иммунитетом существуют конкурентные, антагонистические взаимоотношения (15-17), в результате которых гиперчувствительность замедленного типа на нормальные эритроциты, очевидно, подавляется бурно развивающимся гуморальным ответом.

В свете новых работ по данному вопросу можно полагать, что такой антагонизм, вероятно, связан с продукцией Т лимфоцитами-киллерами, коммиттированными по гиперчувствительности замедленного типа, репрессоров В лимфоцитов (18-20), и, наоборот, с образованием В-клетками репрессоров функции Т-клетки (21). Мы считаем, что трансформация в клетки Мотта является частным, морфологически выявляемым случаем этого антагонизма, когда репрессируется антителообразование в одном из клонов В-клеток, уже прошедших дифференцировку и включившимся в гуморальный ответ одновременно с индукцией гиперчувствительности замедленного типа. Данное обстоятельство определяет раннее появление и преходящий характер трансформации в клетки Мотта даже при сенсibilизации крыс БЦЖ, когда, в отличие от иммунизации их ацетоацетилованными эритроцитами, исход конкуренции двух реакций совершенно иной: гуморальный иммунитет подавляется полностью, а образование клеток Мотта больше чем на порядок превосходит аналогичную реакцию при иммунизации эритроцитами (11).

Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза

Поступило  
31 X 1974

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Г. В. Ковалевский, ДАН, т. 172, № 3, 709 (1967). <sup>2</sup> Г. В. Ковалевский, Тр. Ленингр. научн. общества патологоанатомов, т. 8, 218 (1967). <sup>3</sup> A. A. Maximow, *Special Cytology*, N. Y., 1928. <sup>4</sup> W. Bloom, D. W. Fawcett, A. *Textbook of Histology*, Philadelphia, 1962. <sup>5</sup> J. J. Vazquez, T. Makinodan, *Federat. Proc.*, v. 25, № 6, Part I, 1727 (1966). <sup>6</sup> K. Krawczynski, K. Madalinski, *Ann. Immunol.*, v. 2, № 1, 3 (1969). <sup>7</sup> G. Dubreuil, M. Favre, *C. R. Biol.*, v. 77, № 1/3, 89, 317, 372 (1914). <sup>8</sup> A. Zlotnick, *Blood*, v. 11, № 11, 1140 (1956). <sup>9</sup> J. P. Thiery, *Synthèse cell. et structure molec. immunoglobul.*, Paris, 1969, p. 49. <sup>10</sup> Г. В. Ковалевский, Современные биохимические и морфологические проблемы соединительной ткани, Новосибирск, стр. 360, 1971. <sup>11</sup> G. Kovalevsky, *Arch. Immunol. et Ther. Exp.*, v. 20, № 5, 707 (1972). <sup>12</sup> C. R. Parièh, *Europ. J. Immunol.*, v. 2, № 2, 143 (1972). <sup>13</sup> I. Gery, A. M. Davies, *Vox sanguinis*, v. 8, N 5, 634 (1963). <sup>14</sup> В. Д. Бронда, Усп. совр. биол., т. 59, № 2, 258 (1965). <sup>15</sup> C. R. Parish, *J. Exp. Med.*, v. 134, № 1, 21 (1971). <sup>16</sup> C. R. Parish, F. Y. Liew, *J. Exp. Med.*, v. 135, № 2, 298 (1972). <sup>17</sup> C. R. Parish, *Cell. Immunol.*, v. 6, № 1, 66 (1973). <sup>18</sup> R. R. Rich, C. W. Pierce, *J. Exp. Med.*, v. 137, № 3, 649 (1973). <sup>19</sup> D. H. Katz, W. E. Paul, B. Benacerraf, *J. Immunol.*, v. 110, № 1, 107 (1973). <sup>20</sup> P. J. Baker, N. D. Reed et al., *J. Exp. Med.*, v. 137, № 6, 1431 (1973). <sup>21</sup> R. Neta, S. B. Salvin, *Cell Immunol.*, v. 9, № 2, 242 (1973).