

Член-корреспондент АН СССР И. А. ТЕРСКОВ,
И. И. ГИТЕЛЬЗОН, Я. И. ПУХОВА, А. В. ШАШКИН, А. Я. АНИКИНА

АНТИГЕННАЯ РАЗНОКАЧЕСТВЕННОСТЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭРИТРОЦИТОВ

Феномен аутоиммунного гемолиза при регенераторном эритропоэзе, реализующийся популяцией лимфоидных клеток (¹), позволил сделать предположение о регуляторной роли аутоиммунного процесса, заключающейся в элиминации эритроидных клеток, несущих на поверхности измененные антигенные детерминанты. В свою очередь, появление аутоантигенных детерминант по принципу обратной связи индуцирует развитие аутоиммунной реакции. Крайне важным для понимания регуляторной роли аутоиммунного процесса было выяснить, направлено ли действие гемолизина преимущественно против определенной группы эритроцитов, или оно неизбирательно и повреждает все эритроциты в равной степени. Согласно нашему предположению, изменение антигенной структуры мембраны отдельного эритроцита является не случайным процессом, а определяется длительностью и интенсивностью функционирования клетки. Косвенно об этом свидетельствует повышение вероятности элиминации меченных эритроцитов из русла с их возрастом и сокращение срока жизни эритроцитов при их усиленном функционировании (^{2, 3}).

В литературе имеются данные об изменении антигенной структуры дифференцирующихся клеток от эритробласта до ретикулоцита в сторону увеличения антигенных детерминант, свойственных зрелым эритроцитам (^{4, 5}). Данных о возрастной динамике антигенной структуры зрелых эритроцитов мы не обнаружили. Вероятно, это связано с невозможностью морфологического отличия безъядерных клеток по возрасту.

Для решения вопроса о гетерогенности популяции эритроцитов по антигенной структуре нами использован метод кислотных эритрограмм, позволяющий описывать распределение эритроцитов по стойкости к кислоте, коррелирующей с их возрастом (⁶).

Выполнено две серии опытов. Цель первой серии — выявление влияния фиксации антител на поверхности эритроцита на его кислотную стойкость. Эритроциты барана в 3% взвеси инкубировались в течение 45 мин. при 37° с антисывороткой, взятой в концентрациях 5 и 10 титров. Контролем служила взвесь эритроцитов, инкубируемая с физиологическим раствором. На рис. 1 представлены эритрограммы, снятые по стандартной методике (⁷) после 45 мин. инкубации. Как видно из рис. 1, стойкость эритроцитов, фиксировавших антитела, снижается, что проявляется смещением кривой распределения эритроцитов влево на эритрограмме. Поскольку была использована сыворотка, иммунная ко всей популяции циркулирующих эритроцитов, вся кривая смещена влево от контрольной, что свидетельствует о снижении стойкости всей популяции эритроцитов. Следовательно, фиксация антител на поверхности эритроцита может быть обнаружена по падению кислотной стойкости.

Основываясь на этом результате, мы провели вторую серию опытов, целью которых было исследование изменений в распределении эритроцитов по стойкости в фазе запуска эритропоэза. Если основное предположение об избирательном действии аутоантител на стареющие эритроциты справедливо, то в соответствии с описанным ранее эффектом усиления аутоиммунного

неза при усилении эритропоэза (¹) в максимуме увеличения антигелообразующих клеток в периферической крови должно наблюдаться увеличение группы поврежденных, низкостойких клеток.

Эксперимент выполнен на 27 мышках-самках линии СВА весом 16–20 г. Для усиления эритропоэза использовано действие гипоксии, которой мыши

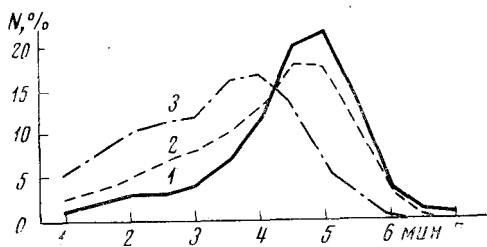


Рис. 1. Кислотная стойкость эритроцитов (N) при разной концентрации антиэритроцитарных антител. 1 — без антител, 2 — 5 титров, 3 — 10 титров

подвергались в барокамере при давлении 0,5 атм. по 20–21 часу в сутки в течение 10 суток. Увеличение эритропоэза фиксировалось по нарастанию гемоглобина и ретикулоцитов. Для оценки аутоиммунной реакции использовался метод локального гемолиза Эрне в модификации Клемарской (⁸). Ретикулоциты считались в двух мазках на 2000 клеток в каждом. Исследование показателей проводилось в каждой группе одновременно и по одному разу в фоне (6 мышей), через 10 час. гипоксии (7 мышей) и на 3, 6 и 10 сутки гипоксии (по 5, 4 и 5 животных соответственно).

Исследование кинетики формирования популяции бляшкообразующих клеток (б.о.к.) показало достоверное увеличение их уже через 10 час. гипоксии по сравнению с фоном (среднее количество б.о.к. из всей группы в фоне 7,5 %, в опыте 36,5 %, $P < 0,001$). На 3, 6 и 10 сутки наблюдалось достоверное снижение (2,4 %; 2,3 % и 1,8 % соответственно при $P < 0,02$ $< 0,01$ и $< 0,01$).

При анализе эритрограмм все эритроциты были разделены по кислотной стойкости на 3 группы: в группу низкостойких включены клетки стойкости от 2,0 до 3,5 мин., группу среднестойких клеток составляют клетки от 3,5 до 6,5 мин. и группу высокостойких — клетки со стойкостью больше 6,5 мин. Распределение эритроцитов по стойкости в максимуме б.о.к. (через 10 час. гипоксии) свидетельствует об увеличении доли клеток стойкостью от 2,0 до 3,5 мин. за счет снижения численности клеток соседней группы — стойкостью 3,5–6,5 мин. без изменения доли высокостойких клеток (рис. 2). В более поздние сроки гипоксии (на 3, 6 и 10 сутки) отмечалось достоверное увеличение доли высокостойких клеток ($P < 0,05$, $< 0,001$, $< 0,001$) (рис. 3). Эта группа клеток повторяла динамику ретикулоцитов, в то время как группа клеток стойкостью от 2,0 до 3,5 мин. повторяла кинетику б.о.к. (рис. 2, 3). Уровень гемоглобина на 10 сутки гипоксии достоверно повысился по сравнению с фоном (средний уровень гемоглобина из всей группы в фоне 13,1 г. %, на 10 сут. — 19,5 г. %, $P < 0,001$).

Следовательно, в раннюю фазу гипоксического воздействия максимуму клеточной фазы иммунного ответа соответствует увеличение доли низкостойких эритроцитов, в более поздние сроки — увеличение доли высокостойких клеток на эритрограмме коррелирует с динамикой нарастания ретикулоцитов.

Обсуждение. Если бы эритроциты имели одинаковую антигенную структуру, то выделившиеся антитела в максимуме клеточной реакции равномерно распределились на всех эритроцитах и уменьшение стойкости популяции в целом должно было проявиться смещением кривой распределения эритроцитов на эритрограмме влево, как это наблюдалось при действии антител ко всей популяции ксеногенных эритроцитов (рис. 4). В действительности же эритрограмма через 10 час. гипоксии показывала увеличение сдвига влево только группы низкостойких клеток без изменений в правой части эритрограммы. Отсюда следует, что аутоантитела преимущественно взаимодействуют с эритроцитами, что видно на левой части эритрограммы,

т. е. они видны стареющим эритроцитам, которые и индуцируют аутоиммунную реакцию.

Полученные экспериментальные данные об избирательном взаимодействии аутоантител со стареющей группой эритроцитов говорят в пользу выданного представления об антигенной разнокачественности популяции

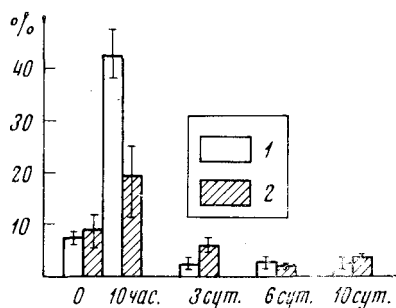


Рис. 2

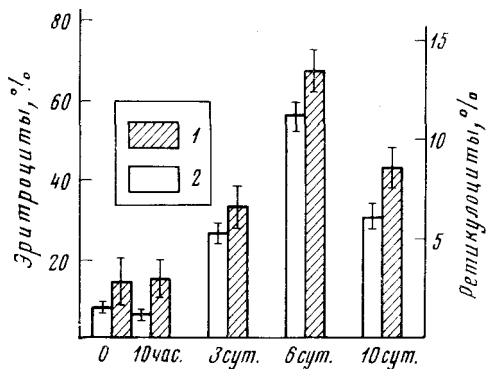


Рис. 3

Рис. 2. Динамика б.о.к. (1) и эритроцитов со стойкостью 2,0–3,5 мин. (2) при гипоксии

Рис. 3. Динамика эритроцитов со стойкостью больше 6,5 мин. (1) и ретикулоцитов (2) при гипоксии

циркулирующих эритроцитов, которая коррелирует с их стойкостью к неспецифическому гемолитику — кислоте. Следовательно, в эритрограмме содержится информация о распределении эритроцитов по антигенной структуре: аутоантигенность клеток возрастает по мере снижения их стойкости.

Механизм изменения антигенных свойств клетки с ее возрастом требует специальных исследований, возможно, он связан с частичной денатурацией белковых молекул мембраны (9).

Поскольку максимум б.о.к. появляется в ранние сроки — через 10 час. гипоксии и совпадает с максимумом антигенного стимула, регистрируемого по увеличению низкостойких эритроцитов, можно думать, что развитие аутоиммунной реакции идет по принципу вторичного иммунологического ответа. Такая возможность обусловлена, по-видимому, наличием физиологического уровня антителообразующих антиэритроцитарных клеток (10), а, следовательно, и фонового значения антигенного стимула, поддерживающего этот постоянный уровень при нормальном состоянии системы крови.

Полученные данные могут свидетельствовать о физиологическом значении аутоиммунных процессов в обеспечении фенотипического гомеостаза клеточных популяций пролиферирующих тканей: уничтожении стареющих клеток по исходящему от них сигналу о возрастающей аутоантигенности.

Институт физики им. Л. В. Киренского
Сибирского отделения Академии наук СССР
Красноярск

Поступило
26 XI 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Я. И. Пухова, И. И. Гительзон, И. А. Терсков, ДАН, т. 217, № 4, 946 (1974).
- ² М. А. Федоров, М. А. Горбунова, Патол. физиол. и эксп. терап., т. 6, 65 (1963).
- ³ И. И. Гительзон, И. А. Терсков, С. Е. Мочкина, В сб.: Научные тр. Красноярск. мед. ин-та, Красноярск, т. 5, 158 (1958).
- ⁴ F. Minio, C. Howe et al., Nature New Biol., v. 237, 75, 187 (1972).
- ⁵ H. Borsook, K. Ratner, B. Tattrie, Nature, v. 221, 1261 (1969).
- ⁶ И. И. Гительзон, И. А. Терсков, В сб.: Вопр. биофизики, биохимии и патологии эритроцитов, Красноярск, в. 2, 1960, стр. 62.
- ⁷ И. И. Гительзон, И. А. Терсков, Эритрограмма как метод клинического исследования крови, Красноярск, 1959.
- ⁸ Н. Н. Клемпарская, Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., № 8, 35 (1971).
- ⁹ М. З. Сигал, Усп. совр. биол., т. 33, 3, 409 (1952).
- ¹⁰ Н. Н. Клемпарская, Аутоантитела облученного организма, М., 1972.