

ЛИТЕРАТУРА

1. Барышевский В. Г.— Докл. АН СССР, 1980, т. 255, № 2, с. 331.
2. Baryshevskii V. G., Grybich A. O., Dubouskaya I. Ya.— Phys. Stat. Sol(b), v. 99, p. 205.
3. Алферов Д. Ф., Башмаков Ю. А., Бессонов Е. Г.— Труды ФИАН, 1975, т. 80, с. 100.
4. Берестецкий В. Б., Лифшиц Е. М., Питаевский Л. П. Квантовая электродинамика.— М., 1980.
5. Калашников Н. П., Ольчак А. С. Взаимодействие ядерных излучений с монокристаллами.— М., 1979.
6. Ландау Л. Д., Лифшиц Е. М. Теория поля.— М., 1973.
7. Жеваго Н. К.— ЖЭТФ, 1978, т. 75, вып. 4, с. 1389.
8. Базылев В. А., Глебов В. И., Жеваго Н. К.— ЖЭТФ, 1980, т. 78, вып. 1, с. 62.

Поступила в редакцию
14.03.81.

Кафедра ядерной физики

УДК 616-097.612.017

В. П. ЗОРИН, И. П. МЕРКУЛОВА,
А. И. СЫКАЛО, С. Н. ЧЕРЕНКЕВИЧ

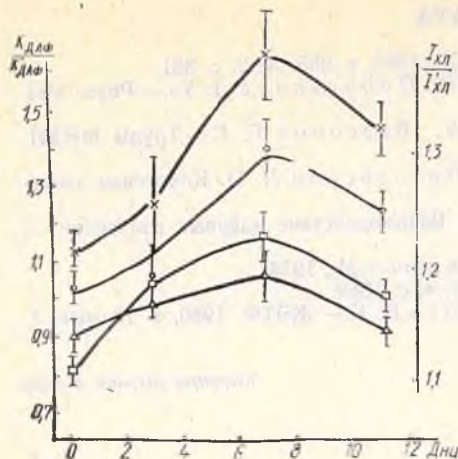
БИОФИЗИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОНКОЦИТОВ И ИММУНОЦИТОВ

Взаимодействие опухолевых клеток и иммуноцитов с последующей гибелью онкоцитов является формой реализации иммунологического надзора [1], традиционная трактовка которого получает в последние годы развитие как в плане понимания закономерностей онтогенеза опухолевых клеток, так и в плане новых взглядов на взаимоотношения опухоли и организма, системы иммунитета и опухоли [2]. В связи с этим особый интерес представляют механизм и количественная оценка взаимодействия опухолевых клеток-мишеней и иммуноцитов.

Количественная характеристика взаимодействия иммуноцитов и клеток-мишеней, основанная на определении радиоактивного хрома, вышедшего в среду из разрушенных клеток-мишеней, позволяет оценить лишь исход этого взаимодействия [3] или количественно учесть влияние модификации среды взаимодействия клеток на проявления киллер-эффекта [4]. Необходимость применения культуральных методов и использование радиоактивной метки ограничивает распространение в клинической и экспериментальной практике такого способа оценки эффективности конечного этапа клеточного иммунного ответа.

Электронная микроскопия взаимодействующих иммуноцитов и клеток-мишеней в организме [5] и в культуре вне его [6] хотя и дали много новых и интересных фактов об особенностях этой формы межклеточного взаимодействия, однако не нашли (как и методы электронной гистохимии [7] или криофрактографии [8]), в силу своей трудоемкости и статичности, широкого применения. Для преодоления недостатков указанных методов была предпринята попытка на основе методов люминесценции количественно оценить интенсивность и охарактеризовать динамику параметров взаимодействия иммуноцитов и клеток-мишеней.

Исследовано изменение перекисного окисления липидов и активности неспецифических клеточных эстераз, сопутствующее взаимодействию онкоцитов и иммуноцитов. В качестве клеток-мишеней использовали клетки асцитной гепатомы мышей (АГ-22а) в рабочей концентрации $5 \cdot 10^6$ кл/мл. Иммунные лимфоциты выделяли по стандартной методике из тимуса и брыжеечных лимфоузлов крыс, предиммунизированных клетками-мишенями. Рабочая концентрация иммуноцитов составляла $10 \cdot 10^6$ кл/мл. Смесь взвешенных клеток АГ-22а и иммуноцитов в растворе Хэнкса осаждали центрифугированием и инкубировали 30 мин при 37°C ; осадок ресуспендировали, и полученную взвесь клеток немедленно использовали для измерений. Контролем служила смесь тех же кле-



Зависимость отношения скорости гидролиза ДАФ (XO) и интенсивности хемилюминесценции (Δ □) в суспензии совместно и раздельно инкубированных иммуноцитов и онкоцитов от времени после иммунизации. Лимфоциты селезенки — X□; лимфоциты тимуса — OΔ

опухолевой клетки и одного или нескольких прикрепленных к ней лимфоцитов. В контроле число кластеров не превышало 1—2 %. Активность эстераз в опытных образцах с высоким содержанием кластеров в 1,4—2 раза превышала значения в контрольной группе. Для суспензий с активным взаимодействием онкоцит — иммуноцит выявлено увеличение по сравнению с контролем иницированного Fe^{2+} хемилюминесцентного свечения. Изменение скорости ферментативного распада ДАФ и интенсивности хемилюминесценции оказалось взаимосвязанным (см. рисунок).

Данные обоих методов свидетельствуют, что оценка интенсивности иницированной Fe^{2+} хемилюминесценции и активности клеточных эстераз во взаимодействующих онкоцитах и иммуноцитах является простым и информативным показателем киллерной активности иммуноцитов по отношению к опухолевым клеткам. Содержательная интерпретация полученных результатов выявила ряд интересных закономерностей.

Вопреки сложившемуся представлению [1] об иммунологической реактивности тимуса при иммунизации тимоциты продемонстрировали более низкую по абсолютным показателям, но сходную по динамике реактивности. Способность лимфоцитов тимуса осуществлять киллерные реакции свидетельствует, что в этом центральном органе клеточного иммунитета происходит антигензависимая дифференцировка T-лимфоцитов с образованием конечных эффекторных форм. Обращает на себя внимание меньшее повышение способности к инициации хемилюминесценции у тимоцитов по сравнению с лимфоцитами брыжеечных лимфоузлов (соответственно с 1,15 до 1,19 и с 1,11 до 1,22).

Эти данные, не укладывающиеся в сложившиеся представления о гистофизиологии тимуса, хорошо согласуются с предложенной ранее одним из авторов [10] схемой формирования толерантности в тимусе. Судя по реакции тимоцитов на иммунизацию в органе происходит (хотя и не так интенсивно, как в периферических лимфоидных органах) пролиферация и дифференцировка тимоцитов в эффекторные клетки.

В обычных условиях в тимус не проникают иммунокомпетентные клетки из циркуляции и наиболее вероятно внутриорганный происхождение клеток, вступающих во взаимодействие с онкоцитами *in vitro* [1].

Результаты исследований позволяют высказать некоторые суждения об особенностях поведения клеток при взаимодействии онкоцитов и им-

ток, приготовленная непосредственно перед измерением, и изолированные исходные клеточные популяции.

Динамику активности неспецифической эстеразы определяли с помощью диацетатфлуоресцеина (ДАФ). ДАФ в исходной форме практически не люминесцирует, его молекулы в растворе нейтральны и диффундируют через цитолемму, где под действием внутриклеточных эстераз ДАФ превращается в флуоресцеин. По увеличению интенсивности флуоресценции ($\lambda_{возб}=480$ нм, $\lambda_{рег}=530$ нм) можно судить о суммарной активности клеточных эстераз. Уровень перекисного окисления липидов оценивали по интенсивности хемилюминесцентного свечения, иницированного ионами Fe^{2+} [9].

По данным световой микроскопии, значительная часть совместно инкубированных клеток (15—18 %) формирует кластеры, состоящие из

муноцитов. В исследованной модели происходит, судя по возрастанию активности неспецифических эстераз, активация внутриклеточных ферментов. Этот факт хорошо согласуется с данными электронной микроскопии и электронной гистохимии об активации лизосом и пластинчатого комплекса в клетках-мишенях и клетках-киллерах [7]. Усиление перекисного окисления при взаимодействии онкоцитов и иммуноцитов у иммунизированных опухолевыми клетками животных может быть объяснено в сопоставлении с исследованиями ультраструктуры зоны контакта в системе иммунный лимфоцит — клетка-мишень. Показано [6], что в зоне контакта происходит изменение структуры мембран взаимодействующих клеток, а на противоположном полюсе — сдувание участков мембраны [11]. Методами криофрактографии [8] выявлено упрощение поверхностной структуры мембраны клеток-мишеней, снижение плотности распределения элементарных белковых глобул на их поверхности. Таким образом, активация перекисного окисления липидов в матриксе мембран взаимодействующих онкоцитов и иммуноцитов свидетельствует в пользу представлений о дестабилизации мембран клеток-мишеней и их лизосом, как в механизме «летального удара» [12].

Попытка применения люминесцентных методов исследования эффекторного взаимодействия иммунных лимфоцитов различного происхождения и опухолевых клеток продемонстрировала простоту и надежность методов количественной оценки взаимодействия и выявила возможность анализа динамики свойств взаимодействующих клеток в ходе реакции. Интерпретация полученных данных позволила подтвердить ранее высказанное предположение [10] о наличии в тимусе иммунизированных животных антигензависимых дифференцировок, включая дифференцировки на последнем эффекторном звене иммуногенеза. Получены данные, дополняющие представление о механизмах повреждения клеток-мишеней при их взаимодействии с иммунными лимфоцитами. Используемые методы могут быть рекомендованы как для количественной оценки взаимодействия иммунных лимфоцитов — клеток-мишеней, так и для расшифровки механизмов этого взаимодействия или сравнительной характеристики веществ, влияющих на это взаимодействие.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бернет Ф. М. Клеточная иммунология.— М., 1971, с. 542.
2. Кавецкий П. Е., Бутенко З. А. и др. Проблемы канцерогенеза и антиканцерогенеза.— Киев, 1979, с. 256.
3. Leijlsmaker et al.— J. of Immunology, 1977, v. 119, № 4, p. 1507.
4. Maull J., Rudolf H. et al.— Immunology, 1970, v. 18, № 4, p. 517.
5. Batchelov J. R., Welch R. I.— British medical bulletin, 1976, v. 32, № 3, p. 113.
6. Sanderson C. J.— Proc. R. Soc. Lond. B., 1977, v. 198, p. 315.
7. Thiernesse N., David A.— Comptes Rendus des seances de l'Academie, 1978, v. D. 285, № 6, p. 713.
8. Fried D. S., Smith H. A.— Am. J. of Pathology, 1977, v. 86, № 1, p. 149.
9. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.— М., 1974.
10. Сыкало А. И., Жарикова Н. А.— Здравоохранение Белоруссии, 1978, № 3, с. 36.
11. Быковская С. Н., Быковский А. Ф. и др.— Бюл. эксп. биол. и мед., 1977, № 10, с. 443.
12. Брондз Б. Д., Рохлин О. В. Молекулярные и клеточные основы механизма иммунологического распознавания.— М., 1978.

Поступила в редакцию
19.03.81.

Кафедра биофизики