

Ключевые слова: иммунология; антителообразующие клетки; метод локального гемолиза; мыши

О. Т. Кудаева, Н. Ю. Громыхина, В. А. Козлов (Новосибирск)

## ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИТЕЛООБРАЗУЮЩИХ КЛЕТОК, ОПРЕДЕЛЯЕМЫХ МЕТОДОМ ЛОКАЛЬНОГО ГЕМОЛИЗА

Институт клинической иммунологии СО АМН СССР

Одновременное определение количества антителообразующих клеток (АОК) двумя вариантами метода локального гемолиза — в геле и в жидкой фазе — при индукции толерантности у крыс, а также при иммунизации мышей с низким и высоким типами ответа позволяет предположить, что выявляемые этими методами клетки отличаются по своим характеристикам [3, 14]. В настоящей работе было продолжено изучение некоторых свойств АОК, определяемых в геле и в жидкой фазе.

**Методика.** В опытах использовали мышей линий СВА и С57В1/6, самцов и самок 2—3-месячного возраста. Эритроциты барана (ЭБ) вводили внутривенно в дозе  $2 \cdot 10^8$  ЭБ. Количество АОК в селезенке определяли на 4-е сутки методом локального гемолиза в геле [8] и в жидкой фазе [6]. При изучении динамики иммунного ответа количество АОК определяли на 3-, 4-, 5-, 6-е сутки. В качестве ингибитора деления использовали оксимочевину («Calbiochem») в дозе 1 г/кг массы двукратно с интервалом в 7 ч [9]. Для стимуляции иммунного ответа использовали острую кровопотерю [2] или двукратное введение интерлейкина-1 (IL-1), полученного в культуре макрофагов мышей (СВА-С57В1/6) F<sub>1</sub> [10] и активного в тесте стимуляции ответа тимоцитов на митоген [15].

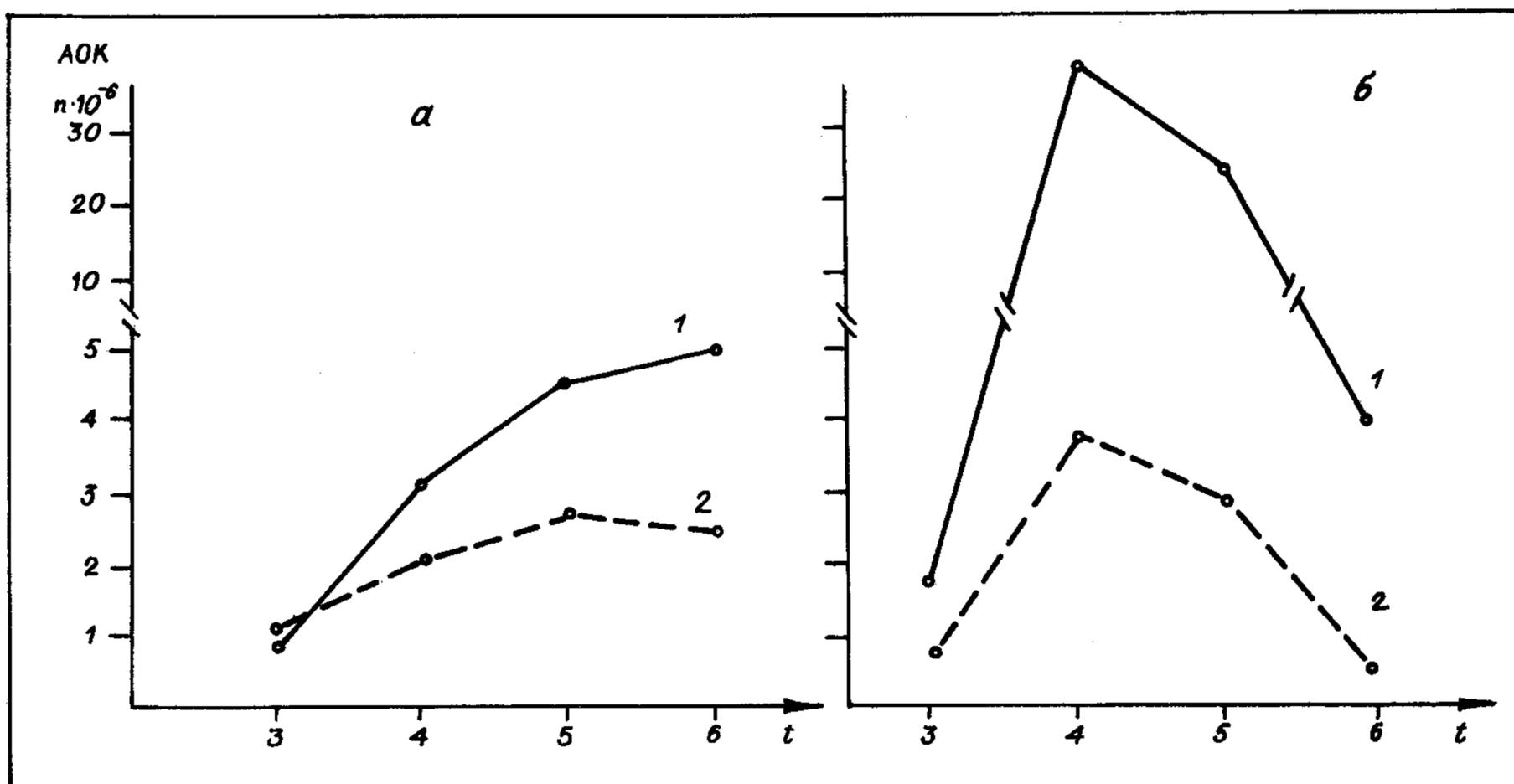
Для обозначения различий в количестве АОК, определяемых разными методами введен индекс:

$$\frac{\text{кол-во АОК в жидкой фазе} - \text{кол-во АОК в геле}}{\text{кол-во АОК в жидкой фазе}}$$

Статистическую оценку полученных результатов проводили с помощью непараметрических критериев для независимых выборок [1].

**Результаты.** Для характеристики АОК, определяемых в геле и в жидкой фазе, изучали изменение количества АОК одновременно двумя методами в динамике иммунного ответа (см. рисунок). В процессе ответа на антиген происходит изменение соотношения количества АОК, определяемых разными методами: индекс увеличивается от 0,442 на 3-и сутки до 0,886; 0,856 и 0,818 соответственно на 4-, 5-, 6-е сутки ( $P < 0,05$ ) у мышей высокоотвечающей линии и от —0,150 до 0,334; 0,369 и 0,365 у мышей низкоотвечающей линии ( $P < 0,01$ ).

Известно, что антитела, синтезируемые на начальных этапах иммунного ответа, характеризуются низкой аффинностью, в процессе ответа происходит селекция АОК, вырабатывающих высокоаффинные антитела [11]. Сопоставление динамики изменений аффинитета синтезируемых антител и соотношения количества АОК, определяемых разными методами, позволяет высказать предположение, что АОК, секретирующие высокоаффинные антитела и появляющиеся на поздних стадиях иммунного ответа, не выявляются в геле. Возможно, параллельно с увеличением аффинности происходит изменение и других свойств антител, затрудняющее их выявление в геле. Так, показано, что у мышей высокоотвечающей на ЭБ линии Balb/c только часть АОК, синтезирующих IgM, определяется пря-



Количество АОК/селезенки мышей в разные дни после иммунизации.  
*a*—мыши С57В1; *b*— мыши СВА. 1—количество АОК в жидкой фазе; 2— количество АОК в геле.

мым методом [12]. Другая часть этих клеток выявляется только при добавлении антисыворотки к IgM — непрямым методом, обычно используемым для определения антител с пониженной способностью активировать комплемент [13].

Известно, что АОК представлены морфологически очень гетерогенной популяцией, включая активно пролиферирующие лимфобласты, не способные к делению плазматические клетки и переходные формы [7].

Введение ингибитора деления мышам СВА, у которых в отличие от мышей низкоотвечающей линии в жидкой фазе выявляется значительно больше АОК, чем в геле [3], на фоне активно идущих пролиферативных процессов (продуктивная фаза иммунного ответа) приводит к резкому угнетению ответа (табл. 1); индекс при этом изменяется от 0,462 до  $-0,169$  ( $P < 0,01$ ). Вероятно, неделящиеся АОК обладают равной способностью вызывать локальный гемолиз как в жидкой фазе, так и в геле.

Таким образом, можно предположительно охарактеризовать АОК, выявляемые в жидкой фазе, как более пол-

ную популяцию АОК, включая активно пролиферирующие клетки. АОК, выявляемые в геле, вероятно, представляют клетки, синтезирующие антитела низкой аффинности, возможно, с высокой способностью активировать комплемент.

Различные воздействия, изменяющие силу иммунного ответа, реализуются разными путями. Возможно, при этом изменяется не только общее количество АОК, но и их качественные характеристики. Нами предпринята попытка применить параллельное определение количества АОК двумя описанными методами при изучении стимуляции иммунного ответа у мышей низкоотвечающей линии С57В1/6.

Введение IL-1 вызывает стимуляцию иммунного ответа, которая фиксируется обоими методами, индекс при этом не меняется (табл. 2). Острая кровопотеря за сутки до иммунизации приводит к увеличению числа АОК, определяемых в жидкой фазе и не изменяет количество АОК, определяемых в геле; индекс увеличивается от 0,112 до 0,350 (см. табл. 2).

**Заключение.** Разный характер изменения АОК свидетельствует о разных

Т а б л и ц а 1

Количество АОК в селезенке мышей СВА при введении оксимочевины

Группа	Количество животных	Количество клеток селезенки $\cdot 10^6$	Количество АОК в геле	Количество АОК в жидкой фазе	Индекс
Контроль	34	256,9	62 974	123 630	0,462
Введение оксимочевины	30	203,3	8 933	8 636	$-0,169$

Количество АОК в селезенке мышей С57В1/6 при стимулирующих воздействиях

Группа	Количество животных	Количество клеток селезенки · 10 <sup>6</sup>	Количество АОК в геле	Количество АОК в жидкой фазе	Индекс
Контроль	32	168,5	9 973	12 238	0,112
Кровопотеря	25	199,1	11 524	17 632	0,350
Контроль	18	148,8	8 086	9 733	—0,192
Введение интерлейкина-1	20	182,1	16 403	18 193	—0,037

механизмах стимуляции под влиянием применявшихся воздействий. Введение IL-1, вероятно, приводит к стимуляции Т-хелперов и активации начальных этапов иммунного процесса с вовлечением в ответ большего количества предшественников АОК [10, 15], но принципиальный характер ответа, свойственный этой линии, не меняется. Острая кровопотеря вызывает активную пролиферацию и дифференцировку всех ростков кроветворения [2], при этом увеличивается пропорция АОК, определяемых в жидкой фазе. Можно предположить, что в этот период снижена активность супрессорной системы, в частности, костномозговых В-супрессоров, ингибирующих активно делящиеся клетки [5], что приводит к растормаживанию иммунного ответа мышей низкоотвечающей линии, характеризующейся повышенной супрессорной активностью [4].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа.— Л., 1978.

2. Козлов В. А., Журавкин И. Н., Цырлова И. Г. Стволовая кроветворная клетка и иммунный ответ.— Новосибирск, 1982.
3. Кудяева О. Т., Лозовой В. П., Козлов В. А.// Иммунология.—1980.— № 5.— С. 27—29.
4. Петров Р. В., Хаитов Р. М.//Успехи совр. биол.—1981.— Т. 91.— № 1.— С. 8—28.
5. Сидорович И. Г., Игнатьева Г. А., Николаева И. А. и др.//Иммунология.—1984.— № 5.— С. 35—37.
6. Cunningham A. J., Szenberg A.//Immunology.—1968.— Vol. 14.— P. 599—600.
7. Harris T. N., Heimmeler K., Harris S.// J. Exp. Med.—1966.— Vol. 123.— P. 161—171.
8. Jerne N. K., Nordin A. A.//Science.—1963.— Vol. 140.— No. 3565.— P. 405.
9. Morse B. S., Rencricca N. J., Stohlman F.// Proc. Soc. Exp. Biol. Med.—1969.— Vol. 130.— P. 986—989.
10. Phillips R., Rabson A. R.//J. Clin. Lab. Immunol.—1983.— Vol. 11.— P. 101—104.
11. Pini C., DiFelice G., Neri R.//J. Immunol.—1980.— Vol. 125.— P. 1349—1354.
12. Sell S., Park A. B., Nordin A. A.//J. Immunol.—1970.— Vol. 104.— P. 483—494.
13. Sterzl J., Riha I.//Nature.—1965.— Vol. 208.— No. 5013.— P. 858—859.
14. Trufakin V. A., Madar J., Matousek V., Hraba T.//Fol. biol.—1976.— Vol. 22.— P. 303.
15. Young M. R., McIvor K. L.//J. Ret. Sos.—1980.— Vol. 27.— P. 39—47.