

М. В. ТАТЬЯН, Ж. А. КЦОЯН, К. А. КАЗАРЯН

## ДИНАМИКА РОК ПРИ ИЗУЧЕНИИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ. I. ВЫЯВЛЕНИЕ РОК В ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНАХ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ

Работа посвящена изучению динамики РОК в селезенке, в отдаленных и регионарных лимфоузлах в процессе формирования иммунологической памяти.

На повестке дня современной иммунологии стоит задача установления природы иммунологической памяти.

Известно, что лимфоциты являются хранителями и переносчиками иммунологической памяти [3]. Уже накоплен экспериментальный материал, доказывающий существование на поверхности лимфоцитов молекул иммуноглобулиноподобных рецепторов [1, 5]. В настоящее время бытует мнение, что как при первичном, так и при вторичном иммунном ответах специфическое антигенное раздражение, вероятно, воспринимается специализированными рецепторами лимфоидных клеток [2].

Для изучения рецепторного аппарата лимфоцитов применяется феномен розеткообразования. Суть метода заключается в том, что при культивировании в жидкой среде лимфоидных клеток с гетерологичными эритроцитами происходит прикрепление эритроцитов к мембране лимфоидных клеток, в результате появляются клетки, окруженные прилипшими эритроцитами.

Цель настоящей работы заключалась в изучении динамики РОК в селезенке и в отдаленных и регионарных лимфоузлах в процессе формирования иммунологической памяти.

*Материал и методика.* Опыты ставились на белых беспородных мышах обоего пола весом 20—22 г. Экспериментальные животные были разделены на следующие группы: животные, иммунизированные эритроцитами барана в/в (I подгр.— в дозе  $1 \cdot 10^6$ , II подгр.—  $5 \cdot 10^6$ ); животные, иммунизированные подкожно в бедро (I подгр.— в дозе  $1 \cdot 10^6$ , II подгр.—  $5 \cdot 10^6$ ); подкожно в область щеки (I подгр.—  $1 \cdot 10^6$ , II подгр.—  $5 \cdot 10^6$ ); животные первых подгрупп вышеуказанных групп, которым через 8 дней была произведена ревакцинация теми же дозами антигена.

Розеткообразующие клетки выявлялись по методу Заалберга [6]. Из селезенки и лимфоузлов (паховых, подчелюстных, подмышечных) готовились клеточные взвеси на среде 199 (рН 7,2—7,5). Взвесь центрифугировалась дважды по 5' при 1200 об/мин. Ресуспендированные клетки после подсчета брались в реакцию из расчета 20 млн в 1 мл, с трижды отмытыми эритроцитами барана из расчета 50 млн в 1 мл. Смесь инкубировалась на 1 час, 15 млн при 37°.

Учет розеткообразующих клеток (РОК) без регистрации конгломератов осуществлялся при помощи микроскопич (увеличение— 400X).

Результаты и обсуждение. Результаты опытов обобщены в табл. 1, 2.

Таблица 1  
Динамика РОК при первичном иммунологическом ответе

Исследуемый орган	Дни введения антигена	Путь и доза антигена					
		бедро п/к		щека п/к		в/в	
		1 млн	500 млн	1 млн	500 млн	1 млн	500 млн
Селезенка	2	291000 (1)	—	900000 (3)	—	—	—
	3	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	132000 (1)	—	—	—
	5	—	—	—	—	—	1836000 (10)
	6	—	—	280000 (4)	672000 (2)	196000 (1)	1000000 (39)
	7	220000 (1)	927000 (3)	148000 (1)	522000 (2)	366000 (1)	1400000 (5)
	8	—	—	—	312700 (1)	230000 (1)	2235000 (7)
	9	—	—	—	—	—	2880000 (7)
	10	216000 (1)	—	—	—	—	—
	Подчелюстные лимфоузлы	2	24200 (2)	—	—	—	—
3		—	—	—	—	—	—
4		—	—	—	—	—	—
5		—	45000 (1)	—	108000 (3)	—	43800 (2)
6		—	—	—	33700 (1)	—	101600 (23)
7		—	—	—	—	—	—
8		—	—	—	—	—	62400 (3)
9		—	—	—	—	—	24600 (2)
10		54000 (1)	—	—	—	18100 (1)	—
Подмышечные лимфоузлы		2	—	—	—	—	—
	3	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	42800 (1)	—	41200 (1)	—
	5	—	21100 (1)	—	—	—	34300 (2)
	6	—	25600 (1)	—	21700 (1)	—	84250 (8)
	7	42100 (1)	24700 (1)	—	—	—	—
	8	—	15000 (1)	—	—	—	76350 (5)
	9	—	—	—	—	—	18200 (2)
	10	—	—	—	—	—	—
	Паховые лимфоузлы	2	66000 (2)	—	60200 (2)	—	—
3		—	—	—	—	—	—
4		26400 (1)	—	26600 (1)	—	—	—
5		—	45800 (2)	—	—	—	179800 (4)
6		—	42000 (2)	—	—	—	—
7		—	75000 (5)	—	—	33100 (1)	231300 (4)
8		—	—	—	—	—	34400 (2)
9		—	—	—	—	—	—
10		58800 (1)	—	—	—	—	—

После внутривенной сенсibilизации животных эритроцитами барана в дозе 1 млн (табл. 1) обнаружены единичные РОК в селезенке на 6-ой, 7-ой, 8-ой дни.

Аналогичная картина наблюдается в подчелюстных, подмышечных, паховых лимфоузлах. При сенсibilизации животных подкожно в область щеки и бедра РОК выявлены в пределах фоновых значений как в селезенке, так и в лимфоузлах.

Динамика РОК при вторичном иммунологическом ответе

Исследуемый орган	Дни введения антигена	Путь и доза антигена		
		бедро п/к 1 млн	щека п/к 1 млн	в/в 1 млн
Селезенка	4	—	—	840000 (24)
	5	100800 (3)*	—	463000 (29)
	6	—	—	550000 (9),]
	7	2322000 (9)	—	1665000 (5,5)
Подчелюстные лимфоузлы	4	—	—	211500 (5)
	5	—	53250 (5)	7500 (1)
	6	—	—	—
	7	68000 (2)	—	41600 (2)
Подмышечные лимфоузлы	4	—	—	49800 (2)
	5	109200 (2)	—	11700 (3)
	6	—	—	20100 (2,5)
	7	38400 (2)	—	55800 (2)
Паховые лимфоузлы	4	—	—	47400 (2)
	5	62450 (6)	—	35550 (6)
	6	—	—	36650 (3)
	7	50400 (3)	—	27850 (1,5)

\* В скобках количество РОК на  $10^3$  ядродержащих клеток.

После внутривенного введения антигена в дозе 500 млн число РОК в селезенке увеличивается, достигая максимума на 6-ой день. Увеличение количества РОК в подмышечных, паховых, подчелюстных лимфоузлах наблюдается, как и в селезенке, на 6-ой день. Однако в селезенке их было в 10 раз больше, чем в лимфоузлах.

При подкожном введении антигена в дозе 500 млн в область щеки и паховых лимфоузлах РОК не были выявлены вообще. И лишь на 5-ый, 6-ой дни эти клетки были обнаружены в подчелюстных лимфоузлах и в селезенке.

При введении антигена в область бедра РОК обнаруживаются в подмышечных лимфоузлах в пределах фоновых значений, а в селезенке и в паховых лимфоузлах наблюдается увеличение этих клеток на седьмые сутки.

Таким образом, введение сенсibiliзирующей дозы антигена ( $1 \cdot 10^6$ ) не повышает числа РОК. Иммунизация животных антигеном в дозе  $5 \cdot 10^6$  ведет к резкому (39-кратному) увеличению этих клеток.

При ревакцинации внутривенным путем (табл. 2) эритроцитами барана в дозе 1 млн количество РОК значительно увеличивается во всех лимфоузлах и селезенке на 4—5-ый дни.

По данным Биози и соавтор. [4], при исследовании вторичного иммунного ответа на эритроциты максимальное количество РОК в селезенке также отмечалось на 4-ый, 5-ый, 6-ой дни.

Если в лимфоузлах на 5-ый день количество РОК на 1000 лимфоцитов составляет 1—6, то в селезенке на  $10^3$  ядродержащих клеток—

29, т. е. в селезенке увеличение числа РОК в 4,8 раз больше, чем в лимфоузлах.

При подкожной ревакцинации в область бедра количество РОК в селезенке составляло 2 322 000 (9 РОК на  $10^3$  ядросодержащих клеток), а в паховых лимфоузлах—50 400 (3 РОК на  $10^3$  ядросодержащих клеток). Максимальное накопление РОК наблюдается на 7-ой день в отличие от аналогичного явления при внутривенной ревакцинации, при которой наибольшее количество отмечается на 4—5-ый дни, что указывает на зависимость этого явления от пути введения антигена.

При ревакцинации в область щеки РОК обнаруживаются только в подчелюстных лимфоузлах в количестве 3—5 на  $10^3$  лимфоцитов. Следовательно, РОК быстрее образуются в регионарных лимфоузлах, чем в отдаленных, что наглядно видно из результатов, полученных при подкожном введении в область бедра и щеки.

Полученные данные указывают на то, что при первичном и вторичном иммунном ответах, независимо от дозы и путей введения антигена, наибольшее число РОК отмечается в селезенке.

Результаты исследований позволяют предположить, что клетки, ответственные за формирование иммунологической памяти, вероятно, не обладают способностью образовывать розетки.

Институт экспериментальной биологии  
АН АрмССР

Поступило 18.IX 1974 г.

Մ. Վ. ԹԱԹՅԱՆ, Ժ. Ա. ԿՄՈՅԱՆ, Կ. Ա. ՂԱԶԱՐՅԱՆ

ՎԱՐԴԱԿ ԱՌԱՋԱՑՆՈՂ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԴԻՆԱՄԻԿԱՆ ԻՄՈՒՆՈԼՈԳԻԱԿԱՆ  
ՀԻՇՈՂՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ. Ի. ԻՄՈՒՆՈԼՈԳԻԱԿԱՆ  
ՀԻՇՈՂՈՒԹՅԱՆ ՉԵՎԱՎՈՐՄԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ ՎԱՐԴԱԿ ԱՌԱՋԱՑՆՈՂ  
ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՀԱՅՏՆԱԲԵՐՈՒՄԸ ԼԻՄՖՈՒԴ ՕՐԳԱՆՆԵՐՈՒՄ

### Ա մ փ ա փ ու մ

Ուսումնասիրվել է իմունոլոգիական հիշողության ձևավորման ընթացքում վարդակ առաջացնող բջիջների (ՎԱԲ) դերը կենդանիներին անտիգենի տարրեր դողաներ տարրեր ուղիներով ներարկման դեպքում:

Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ անտիգենի փոքր դոզայի ներարկման դեպքում ( $1 \cdot 10^6$ ) ՎԱԲ-ի քանակի ավելացում չի նկատվում, մինչդեռ մեծ դոզայից ( $5 \cdot 10^8$ ) նրանց քանակը ինտենսիվ ավելանում է:

Անտիգենի ներերակային ճանապարհով ներարկման դեպքում ՎԱԲ-ի քանակը, ներմաշկային ուղիով ներարկման համեմատությամբ նշանակալի շափով ավելանում է:

Ինչպես առաջնային, այնպես էլ երկրորդային իմուն պատասխանի դեպքում ուսումնասիրված լիմֆոիդ օրգաններից ամենաարագ և ամենաինտենսիվ պատասխանը, անկախ անտիգենի դոզայից և ներարկման ուղիներից, տալիս է փայծաղը:

Ստացված արդյունքները թույլ են տալիս ենթադրելու, որ ՎԱԲ-ը իմունոլոգիական հիշողության պրոցեսում մասնակցություն չի ունենում:

## ЛИТЕРАТУРА

1. Брондз Б. Д. *Transpl Rev.* 10, 112, 1972. РЖБ.
2. Пинегин Б. В., Чершин С. Б., Утешев Б. С. *Вестник АМН СССР.* 3, 1973.
3. Фриденштейн А. Я., Чертокс И. Л. *Клеточные основы иммунитета.* М., 1969.
4. Biozzi J. et al. *Immunology,* 14, 7, 1968.
5. Metzger H. *Annual Rev. Biochem.,* 39, 889, 1970.
6. Zaalberg O. B. *Nature,* 202, 1231, 1964.