

Н. Д. Вартазарян, Т. Н. Вартазарян

МЕЖЪЯДЕРНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕЖДУ ЭФФЕКТОРНЫМИ КЛЕТКАМИ И КЛЕТКАМИ-МИШЕНЯМИ ПРИ КЛЕТОЧНО-ОПОСРЕДОВАННЫХ ИММУННЫХ РЕАКЦИЯХ

Механизм цитотоксического клеточно-опосредованного повреждения клеток-мишеней (КМ) до сих пор окончательно не выяснен. Речь идет в основном о цитотоксических Т-лимфоцитах и натуральных киллерах (НК), способных самопроизвольно убивать опухолевые и инфицированные клетки [4, 6, 11]. Действие клеток-киллеров рассматривается как один из механизмов выздоровления при опухолях и многих инфекциях, в основе которого лежит освобождение организма от патологических клеток путем их разрушения [11, 15]. Для осуществления повреждения КМ необходим клеточный контакт для запуска литического механизма со стороны эффекторных клеток (ЭК). Выдвинуты разные гипотезы и факты, объясняющие некоторые стороны данного процесса [1—8, 12—14], утверждающие, что изменения, развивающиеся в КМ под влиянием ЭК, являются следствием глубоких метаболических и структурных нарушений. Однако совершенно неясным остается вопрос участия ядра ЭК в данном процессе. Каким образом киллер-клетка убивает мишени?

В данной работе мы задались целью представить те характерные изменения, которые наблюдаются со стороны ядер ЭК при взаимодействии с КМ.

Материал и методы

Беспородным белым 42 крысам-самцам весом 200—220 г вводили внутрибрюшинно 0,1 мл адьюванта Фрейнда (Difco, Lab. Detroit, Michigan, USA). Контрольная группа состояла из 6 животных. Крысы декапитировались через 1, 2, 3, 4, 6 часов, 3 и 7 дней. Приготовлены пленчатые препараты из брыжейки на предметных стеклах и отпечатки с поверхности разреза селезенки, которые фиксировались в ацетоне при 4°C в течение 15 мин. Кусочки селезенки фиксировались в ацетоне в течение 1 часа. Парафиновые срезы, отпечатки и пленчатые препараты окрашивались обычными гистологическими методами, ставилась реакция на ДНК по Фельгену.

Для трансмиссионной электронной микроскопии мелкие кусочки селезенки фиксировались в 2,5% растворе глютаральдегида и 1% растворе четырехоксида осмия. После обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации образцы заключали в аралдид. Из каждого блока готовили полутонкие и ультратонкие срезы, которые контрастировались ацетатом уранила и цитратом свинца и изучались на микроскопе. Полутонкие срезы окрашивались метиленовым синим.

Брыжейка. В пленчатых препаратах через 1 ч. после внутривенного введения адьюванта Фрейнда наблюдается умеренная воспалительная реакция с наличием множественных нейтрофильных лейкоцитов, макрофагов и лимфоцитов. Через 4 ч. в экссудате наряду с лейкоцитами появляются скопления лимфоцитов со сферическим и удлиненным ядром. Характерным является появление в течение 1—2 ч. клеток с запятой-подобными ядрами, которые в последующие три дня выявляются в виде очаговых и диффузных скоплений. Встречаются эф- фектор-мишень, конъюгаты с лизисами ядер КМ. В качестве ЭК реагируют лимфоциты со сферическим или удлиненным ядром в тесном контакте с ядром КМ.

Через 1 ч. после введения адьюванта в соединительной ткани появляются длинные до 500 мкм базофильные волокна, исходящие из ядер ЭК. Большинство из них терминальным концом контактируют с ядрами КМ. Волокна не окрашиваются на фибрин по Вейгерту, проявляют слабую ШИК-позитивную реакцию. Начальная часть волокон имеет узкий слой цитоплазмы, которая по ходу к терминальному концу исчезает. Внутри структур не содержатся органеллы, однако при световом, так и электронном микрокопировании большинство волокон неоднородные. У некоторых осевая Фельген-позитивная часть электронно-плотная, у других состоит из тонких параллельных нитей хроматина. Связь с ядром ЭК, базофилия и позитивная реакция на ДНК позволяют их считать хроматиновыми волокнами (ХВ).

Ядра, испускающие ХВ, имеют неодинаковую форму: в одном случае они бобовидные или сферические, испускают обычно два ХВ; во втором—веретенообразные, один конец, постепенно удлиняясь, переходит в тонкое и длинное ХВ; в третьем—ядра имеют форму купола парашюта, откуда тонкие нити хроматина, вытягиваясь, собираются в одно длинное ХВ.

При световой микроскопии удается обнаружить два морфологических варианта ХВ: 1) волокна длиной до 100 мкм с широкими и узкими участками на всем протяжении оставляют впечатление нити, состоящей из последовательно соединенных 2—3 блоков хроматина, средняя часть которых заметно истончена. В участке соединения блоков хроматин в основном деконденсированный, проявляет слабую Фельген-позитивную реакцию. Терминальный от ЭК блок самый тонкий, конец острый, игольчатый, иногда кончается гранулой из компактного хроматина; 2) волокна непрерывные в виде тонкой гомогенной нити из хроматина длиной до 800 мкм. Постепенно утончаясь, ХВ заканчивается свободным острым концом или гранулой хроматина. Некоторые из них, находящиеся в контакте с КМ своим терминальным концом, напоминают натянутую струну между ядрами двух клеток. ХВ, вытянутые из ядра в количестве 2 и больше, равномерно тонкие, не имеют блочного строения.

В зависимости от взаимодействия с окружающими клетками в соединительной ткани выявляются две структурно-функциональные разновидности ХВ: волокна в контакте с ядерной оболочкой КМ и волокна со свободным концом. Чаще всего ХВ начинается из вершины конусовидного ядра ЭК, а терминальный конец заканчивается на ядерной оболочке КМ. При отсутствии контакта с ядром КМ ХВ волнистые, образуют изгибы, минуя рядом расположенные клетки, и обычно не имеют концевой гранулы хроматина. Судя по морфологическим признакам, можно полагать, что такие ХВ являются формами, отошедшими от КМ после нанесения летального удара. Какова их дальнейшая судьба—трудно угадать. Для ответа на этот вопрос нужны новые исследования. Ядра, испускающие 2 и более ХВ, встречаются редко. Они появляются через 6 часов эксперимента и обнаруживаются в течение 6 суток. Хроматин их гомогенный, компактный, проявляет Фельген-позитивную реакцию и интенсивно окрашивается гематоксилином. Встречаются также клетки с 3 или 4 длинными до 150 мкм ХВ, имеющие форму отростчатых клеток. Ядро, испускающее три ХВ, треугольное, имеет форму нейрона с длинными отростками, состоящими из ядерного вещества. При наличии четырех ХВ и больше на месте ядра выявляется интенсивно окрашенная гранула из компактного хроматина.

Селезенка. В отпечатках с поверхности разреза селезенки и в полутонких срезах после однократного введения адьюванта у всех крыс через 3 часа до третьего дня определяются эффектор-мишень конъюгаты с межцитоплазматическими и межъядерными мостиками. В составе конъюгатов встречаются три морфологические разновидности киллеров: 1) лимфоциты со сферическим ядром, 2) клетки с вытянутыми или грушевидными ядрами, которые в клеточном конъюгате контактируют с ядром одной или двух мишеней, 3) удлинённые клетки с запятой-образными ядрами с одним заостренным игольчатым концом.

В полутонких срезах хорошо выявляются клетки, контактирующие одновременно с 2—3 лимфоцитами. В таких эффектор-мишень конъюгатах ядра ЭК интенсивно окрашены, хроматин компактный, тесно соприкасается с цитоплазмой или ядром КМ. Такие КМ или не изменены, или же находятся в состоянии кариолизиса, а иногда и карioreксиса.

По морфологическим признакам в течение 2 часов ЭК являются лимфоциты и клетки с удлинёнными ядрами. В последующем появляются множественные клетки с запятой-образными ядрами и острым концом. В роли мишени в основном выступают лимфоциты со сферическим ядром. Во всех сроках эксперимента от 1 часа до 7 дней контакт такой ЭК с лимфоцитом-мишенью завершается клеточно-опосредованным лимфолизом.

Механизм повреждающего действия клетки с ядром-запятой на лимфоцит складывается из нескольких этапов. Клеточное взаимодей-

ствие начинается с адгезией киллера с лимфоцитом. Постепенно ЭК охватывает КМ в виде полулуния. После замыкания концов запятой-образного ядра клетки и слияния его обоих полюсов вокруг лимфоцита формируется «ядерное кольцо». Сужение кольца ЭК, лизис цитоплазматических оболочек в области соприкосновения сопровождается слиянием ядер обеих клеток. Процесс завершается лизисом ядра лимфоцита в «объятиях» ядра ЭК. Аналогичную картину удается нередко обнаружить с нейтрофильными лейкоцитами и макрофагами. Клетки с запятой-подобным ядром взаимодействуют также с ядром КМ с удлиненным острым концом.

Активация клеток с запятой-подобным ядром под влиянием адьюванта сопровождается появлением резко вытянутых элементов, образующих ХВ. Такие элементы взаимодействуют с КМ не только кольцевидным ее охватом длинными ХВ, но и терминальным концом. Контакт осуществляется на уровне ядерной оболочки КМ, куда проникает конец ХВ через цитоплазму клетки.

Приведенные данные показывают, что главным морфологическим признаком клеточных реакций является тесный контакт ядра ЭК с ядром КМ. При контакте ядро клетки-киллера осуществляет «летальный удар» ядру КМ. Эти данные являются новыми и не описаны другими исследователями. Только J. Russell и соавт. [10] высказали мысль, что агент, который вызывает ядерное повреждение КМ, инициируется посредством лимфоцита киллера. Характер этого агента еще не известен. Результаты наших исследований показывают, что этот агент вводится в ядро КМ ядром ЭК при их контакте. Это видно в препаратах, окрашенных на ДНК по Фельгену.

Появление клеток с запятой-подобным ядром под влиянием адьюванта следует считать результатом цитодифференцировки, например, по-видимому, на обеспечение выполнения специализированной клеточной функции. Что касается вытянутых клеток с некоторым утолщением в средней части, то они морфологически напоминают филоподии, описанные С. Grossi и соавт. [2] в культуре клеток. По нашим данным, основой филоподии является ядро, которое, выпячиваясь в виде ХВ, заканчивается гранулой из хроматина или пучковчатыми образованиями из Фельген-позитивного вещества на терминальном конце. В тканях в условиях антигенного воздействия, хотя и с трудом, однако более четко удается выявить структурную связь ХВ этих ЭК с ядром КМ.

Таким образом, структурный анализ клеточных взаимодействий в селезенке и соединительной ткани брыжейки крыс после введения адьюванта Фрейнда показывает, что клеточно-опосредованная иммунная реакция сопровождается стимуляцией по крайней мере двух популяций ЭК. Одна популяция проявляет свойство киллера, осуществляя цитотоксическое действие на КМ путем контакта ядер или через ХВ. Вторая популяция обладает двойной функцией на основе информативных и деструктивных клеточных реакций. Действуя непосред-

венно на ядро ЭК как киллер, он одновременно через ХВ передает информацию ядру другого киллера.

Такие контакты в ткани селезенки осуществляются также путем транцитоплазматической передачи хроматиновых зерен в виде цепочки из ядра одной клетки к другой при контакте на уровне цитоплазматических мембран.

Кафедра патологической анатомии
Ереванского медицинского института

Поступила 18/V 1994 г.

Ն. Դ. Վարդազարյան, Տ. Ն. Վարդազարյան

Հանգստի և ԹԻՐԱՆԻ ԲՈՒԶՆԵՐԻ ՄԻՋԵՎ ՄԻՋԿՈՐԻՉԱՑԻՆ ՓՈԽԱՐԱՐԵՐՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԲՋԻՋՆԵՐՈՎ ՄԻՋԿՈՐԻՉԱՎՈՐՎԱԾ ԻՄՈՒՆՈԳԵՆԱԿԱՆ ՌԵԱԿՏԻՎՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Մանրադիտակային ուսումնասիրության են ենթարկվել սպիտակ առնետների միջնդեբի թաղանթային պատրաստուկները և փայծաղը՝ ֆրեյզի սուլֆալանտի ներորոգվածային միանվագ ներարկումից հետո:

Տարբեր ժամկետներում դիտվել է բջիջներով միջնորդավորված բջջաֆունկցիոնում: Հֆեկտոր և թիրախ բջիջների միջև փոխհարաբերությունը ընթանում է նրանց կորիզների սերտ կոնտակտի պայմաններում:

Հֆեկտոր բջիջը իրականացնում է իր «մահացու հարվածը» թիրախ բջիջին՝ կորիզի միջոցով անմիջական հպման կամ տարածության վրա քրոմատինային թելի օգնությամբ: Բոլոր դեպքերում վնասող գործոն է հանդիսանում թիրախ բջիջ կորիզին ուղարկված քրոմատինը:

Հֆեկտոր բջիջները հետերոգեն են, որոնցից յուրաքանչյուրը, կախված իր կորիզի ֆունկցիոնալ ակտիվությունից, կարող է դուրս նետել մեկից յոթ քրոմատինային թել, միաժամանակ ապահովելով մի քանի թիրախ բջիջների վնասում: Այս մեխանիզմը ունիվերսալ է, և ապահովում է շարակցական հյուսվածքի և իմուն համակարգի բջիջների միջև ինֆորմացիայի փոխանցումը:

N. D. Vartazarian, T. N. Vartazarian

Nucleus to Nucleus Interaction between Effector and Target Cells at Cell-Mediated Immune Reaction

Experimental studies *in vivo* have shown that at cell-mediated immune reactions the lethal hit is realised by the effector cell nucleus by a direct contact with a target nucleus or chromatin fiber, which is thrown up to the target at a distance, carrying the damaging agent from the nuclear chromatin.

This process in the dynamics is described for the first time and it is a morphologic documentation of the cell-mediated cytotoxicity.

ЛИТЕРАТУРА

1. Семенов Б. Ф., Каулен Д. П., Баландин И. Г. Клеточные и молекулярные основы противовирусного иммунитета. М., 1982. 2. Grossi C. E., Ciccone E., Migone N.

ос. Nat. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 1619. 3. Henkart P. A. Ann. Rev. Immunol., 1985, 3, 31. 4. Herberman R. B., Reynolds C. W., Ortaldo J. R. Ann. Rev. Immunol., 1986, 4, 651. 5. Janelli J. R., Sullivan J. A., Mendell G. I., Engelhard V. H. J. Immunol., 1986, 136, 377. 6. Jondal M. Clin. Exp. Immunol., 1987, 70, 255. 7. Kupfer A., Dennert C., Singer S. J. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1983, 80, 7224. 8. Lanzavecchia A. Intern. Rev. Immunol., 1989, 4, 109. 9. Pittsillides A. A., Taylor P. M., Bitansky I. et al. Eur. J. Immunol., 1988, 18, 1203. 10. Russell J. H. J. Exp. Med., 1987, 166, 1884. 11. Trinchieri G., Perussia B. Lab. Invest., 1984, 50, 489. 12. Wright S. C., Bonevoda B. J. Immunol., 1982, 129, 423. 13. Young J. D., Cohn Z. A. Adv. Immunol., 1987, 41, 269. 14. Zagury D. Adv. Exp. Biol., 1982, 146, 15. Zinkernagel R., Kreeb G., Althage A. Clin. Immunol. and Immunopathol., 1980, 15, 565.

УДК 577.352.5+577.354

С. Б. Мажинян, Т. О. Аветисян, М. И. Агаджанов, П. А. Казарян

ДЕЙСТВИЕ ОМАГНИЧЕННОГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА НА МЕМБРАНЫ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ *HELIX POMATIA*

В последние годы все большее внимание исследователей привлекает проблема чувствительности биологических систем к магнитным полям (МП) [9, 10]. Наряду с этим расширяются и аспекты использования как МП, так и омагниченной воды при лечении различных болезней [3, 1, 2, 11]. Однако несмотря на накопленный обширный экспериментальный и клинический материал о действии МП различной частоты и силы, а также омагниченной воды на биообъекты существующие в настоящее время гипотезы относительно молекулярных механизмов, лежащих в основе биологических эффектов МП, не дают в итоге исчерпывающего ответа на все полученные экспериментальные данные [13, 15, 18], тогда как выявление этих механизмов позволило бы более эффективно и целенаправленно использовать их.

Известно, что МП (как переменные, так и постоянные) изменяют физические и физико-химические свойства водных растворов, в частности—поверхностное натяжение, диэлектрическую постоянную, растворимость и др. [14]. Учитывая, что вода является основным компонентом клеток (60—80%), можно предположить, что в реализации действия МП на биообъекты немаловажную роль будет играть вода с растворенными в ней органическими и неорганическими веществами. Удобной моделью для интеграции на клеточный уровень данных, полученных на целостном организме, являются гигантские нейроны виноградно-й улитки.

В настоящей работе исследовалось действие омагнищенного физиологического раствора на трансмембранные ионные токи, хемочувствительность, фосфолипидный состав мембран гигантских нейронов улитки.