

## О ПЕРЕДАЧЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Ю. ПАВЕЛ,

кандидат ветеринарных наук

Исследования, проведенные в области адаптивного протеосинтеза, показывают, что при помощи гомологичных лимфатических клеток можно передать способность к синтезу антител (Topley, 1930; Fagraeus, Grabar, 1953). При этом выяснено, что имплантированные клетки пролиферируют не только в сальнике, но мигрируют и в другие ткани (Naškova, Mitchison, 1958; Holub, 1958), замещая клетки облученного реципиента (Ford и др., 1956).

Способность к синтезу антител у введенных клеток продолжается недолго, что объясняется защитной реакцией реципиента (в отношении этих клеток). По мнению Я. Штерцля и З. Трка (1959), продолжительность функционального периода (синтез антител) обусловлена не только возникшей гомотрансплантационной реакцией реципиента, но и видоспецифическими метаболитами. По данным А. Фагреус и П. Грабара, эта защитная реакция выражается в агглютинации и некрозе введенных клеток.

Имуногенетические исследования привели к убеждению, что генетическое родство трансплантата и реципиента имеет решающее значение, причем тканевая совместимость обуславливается так называемыми генами, определяющими синтез тканевых мембран (Barret, 1952; Snell, 1957 и др.).

Защитную реакцию реципиента пытались избежать путем использования в качестве реципиентов иммунологически ареактивных новорожденных животных или взрослых животных с подавленной рентгеновскими лучами иммунологической реактивностью (Т. Н. Нэггис и др., 1954; Šterzl, 1955). С той же целью применяли переливание крови донора (Barret, 1952), причем, по данным П. Андресена с сотрудниками (Andresen и др., 1958), возникающую воспалительную реакцию можно элиминировать путем ослабления витальности имплантированных клеток.

Удалось продемонстрировать, что гетерологичные гемопозитические клетки также продолжают свою деятельность в организме облученного животного (Weyzen, Vos, 1957; LaVia и др., 1958). Но, как показали дальнейшие наблюдения, через некоторое время они, по-видимому, начинают бороться против лимфоидной ткани реципиента, в результате чего возникает так называемая вторичная болезнь (Grabar и др., 1957; Schwartz и др., 1957). К. Портер (Porter, 1960) показал, что способные к синтезу иммуноглобулинов клетки, введенные до 22-суточного зародышу кролика, вызывают у новорожденных так называемую карликовую болезнь и смерть.

Поскольку из всего сказанного следует, что трансплантация клеток затруднена из-за наличия тканевой несовместимости, то особый интерес представляет исследование передачи способности адаптивного протеосинтеза субцеллюлярными фракциями. Возможно, что на субцеллюлярном уровне чужеродность имплантируемого материала выражена не так рельефно. Кроме того, можно предполагать, что при помощи нуклеопротеидов можно вызывать «трансформации» у мезенхимальных клеток. Некоторые основания для этих предположений дают также приведенные ниже литературные данные. Так, Х. Лоренсу (Lawrence, 1955) и другим удалось при помощи клеточного экстракта передать феномен повышенной чувствительности, причем на основании данных В. Йетера и сотрудников (Jeter и др., 1957) кажется, что активное начало находится в альфа-1 фракции глобулинов. Опираясь на данные, судя по которым РНК связана с синтезом антител (Ehrlich и др., 1949 и др.), исследовался также вопрос о том, продолжает ли РНП, изолированный из селезенки иммунизированного донора, свою шаблонную функцию в организме реципиента (Штерцль, Грубешова, 1957; Hrubeshova и др., 1959). Полученные положительные результаты позволяют предполагать, что введенный РНП проникает в лимфатические клетки и продолжает там свою функциональную деятельность.

Особенный интерес представляет вопрос, в какой мере связан ДНП с адаптивным протеосинтезом. Эта проблема остается пока открытой как в отношении низших, так и в отношении высших организмов. Если ДНП дает нужную информацию для синтеза антител, то при помощи введенного ДНП можно передать и синтезирующую способность иммуноглобулинов. На эту возможность указывает выраженная способность к дифференциации камбиальных клеток. Можно назвать и гипотезу Р. Шуйта и Р. Оуэна (Schweef, Owen, 1957), по которой синтез антител определяется измененной антигеном ДНК. Прямое указание на участие ДНК в синтезе антител содержится в работе Я. Штерцля и М. Грубешовой (1957), которым удалось показать, что при помощи гомологичного ДНП реципиентам можно передать способность к синтезу иммуноглобулинов.

Принимая во внимание вышеуказанное, мы поставили перед собой цель исследовать, возможно ли вызвать иммунологическую реактивность при помощи экзогенного ДНП у новорожденных крольчат.

### Материал и методика

В качестве доноров для вызова иммунологической реактивности использовались кролики породы венский голубой в возрасте от 3 месяцев до 1 года. Реципиентами служили 5-суточные крольчата той же породы.

ДНП изолировали по несколько модифицированной методике Х. Швандера и Р. Зигнера (Schwander, Signer, 1950). Фосфор определяли по микрометоду Л. Беренблума и Э. Чейна (Berenblum, Chain, 1938), азот — по несколько модифицированной методике Ф. Лэнни и сотрудников (Lanni и др., 1950).

Препарат вводили реципиентам в брюшную полость в количестве 0,4 мл (150—912  $\gamma$ /мл N). Кровь брали из сердца на 14-й, 21-й и 28-й день жизни. На 14-й день жизни животным, получавшим ДНП (группа Д), и контрольным крольчатам (группа О), в брюшную полость вводили коли-вакцину в количестве  $2,5 \cdot 10^8$  клеток\*.

\* Эта часть работы проведена сотрудником Тартуской межрайонной ветеринарно-бактериологической лаборатории Т. И. Коплус.

В связи с тем, что при возникновении противоэндоотоксического кратковременного промунитета антитела типа агглютининов не имеют определяющего значения (Ørskov, Kauffmann, 1937; Landy, Pillemer, 1956 и др.) и количество неспецифических гаммаглобулинов при вакцинации увеличивается (Гурвич, 1955), то ответ организма на введенную вакцину оценивали и с точки зрения относительного количества глобулинов. Для этого сывороточные белки фракционировали методом электрофореза на бумаге. Общий белок определяли рефрактометрически. В некоторых случаях (начиная с разведения 1:5) определяли и наличие бактериальных агглютининов.

### Результаты исследования и их обсуждение

Исследованию подвергались крольчата, родившиеся в осенне-зимний период. Полученные результаты представлены в нижеследующей таблице. Статистическая обработка не обнаружила существенной разницы между показателями представителей групп Д, О и К. Некоторое увеличение после вакцинации (21-й день жизни) относительного количества гаммаглобулинов в группе О, по-видимому, обусловлено ответом единичных индивидуумов и при статистическом сравнении с остальными группами оказывается несущественным. Бактериальные агглютинины не были выявлены ни в одном случае. Следовательно, можно лишь полагать, что стимуляция крольчат, проведенная на 14-й день жизни при помощи кишечной палочки, вызывает у части особей некоторое увеличение неспецифических гаммаглобулинов. Что касается влияния ДНП, то отмечено лишь некоторое увеличение количества альбуминов, продолжающееся всего 12 дней и не имеющее существенного значения при статистическом анализе.

Возраст (дни)	Группа* и число исследованных животных	Содержание, %					Средний вес крольчат, г
		Белка	Альбуминов	Глобулинов			
				α	β	γ	
14	Д(27)	4,54±0,17	59,3±0,9	16,5±0,5	12,0±0,6	12,2±0,6	205±10
	О(24)	4,62±0,17	58,5±0,9	16,2±0,4	13,5±0,6	11,8±0,6	193±9
	К(22)	4,80±0,22	55,5±1,3	16,3±0,7	14,0±0,5	14,2±0,8	193±11
21	Д(22)	5,11±0,20	59,0±1,4	16,2±0,7	13,2±0,4	11,6±0,8	251±18
	О(25)	4,93±0,10	56,8±1,0	16,5±0,7	13,5±0,7	13,2±0,8	257±21
	К(20)	4,80±0,18	57,3±1,4	16,2±0,8	13,9±0,7	12,6±0,8	264±20
28	Д(20)	4,67±0,08	56,8±0,7	17,6±0,6	13,9±0,5	11,7±0,5	334±30
	О(23)	4,62±0,10	55,6±0,9	18,7±0,6	13,0±0,4	12,7±0,6	327±25
	К(21)	4,70±0,14	55,5±1,2	17,8±1,0	15,0±0,7	11,7±0,6	341±27

\* Группа Д — животные, получавшие ДНП и вакцину  
 " О — " " " только вакцину  
 " К — контрольная

На основании сказанного можно заключить, что изолированный из селезенки нормального кролика ДНП не вызывает появления иммунологической реактивности в постнатальном периоде. Одной из возможных причин этого может служить обстоятельство, что ДНП не поступил в

лимфатические клетки, а подвергся разложению. Но против этого говорят данные, показывающие, что ДНК и ДНП являются антигенами (Blix и др., 1954; Чамова, 1957). Это же означает, что макрофаги захватывают введенный нуклеопротейд. Данные С. Гартлера (Gartler, 1959) и Е. П. Угрюмова (1959) также показывают, что ДНП проникает в животные клетки.

Чем же объяснить полученные отрицательные данные? Из работы Ф. Диксона и У. Уейгла (Dixon, Weigle, 1957) явствует, что для прохождения в имплантированных клетках первой, т. е. индуктивной фазы синтеза антител в организме новорожденных крольчат отсутствуют нужные условия и что для этого требуется гомеостаз взрослого организма. Названные авторы обосновывают это явление незначительным образованием плазматических клеток из введенных лимфатических клеток. Но М. Грубешова и сотрудники показали, что образование плазматических клеток не определяет еще синтеза гаммаглобулинов. Можно предполагать, что для прохождения индуктивной фазы образования антител нужны катализаторы, которые отсутствуют (или концентрация которых незначительна) в постнатальном периоде иммунологической ареактивности. По-видимому, эти катализаторы вызывают непосредственно или косвенно изменения, позволяющие модифицированному антигеном нуклеопротейду реализовать свою информационную функцию для синтеза иммуноглобулинов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Гурвич А. Е., 1955. Соотношение между образованием специфических и неспецифических сывороточных  $\gamma$ -глобулинов. *Вопр. мед. химии*, 1, 3, 169—179. — Павел Ю. Г., 1960. О влиянии парентерально вводимого гомологичного дезоксирибонуклеопротейда на белковый состав сыворотки кролика в постнатальном периоде. Первая биохимическая конференция прибалтийских республик и Белоруссии, Тарту. (В печати.) — Угрюмов Е. П., 1959. О попытках вызвать трансформацию раковых клеток с помощью ДНК. Первая конференция по нуклеиновым кислотам и нуклеопротейдам. Тезисы докладов, 51. М. — Чамова К. Г., 1957. О серологической активности высокополимерной дезоксирибонуклеиновой кислоты. *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, 10, 91—94. — Штерцль Я. и Грубешова М., 1957. Передача нуклеопротейновыми фракциями способности к образованию антител неиммунизированным реципиентам. *ЖМЭИ*, 4, 39—46. — Штерцль Я. и Трнка З., 1959. Условия, делающие возможным образование антител изолированными клетками после их переноса молодым животным. *Ж. гигиены, эпидемиол., микробиол. и иммунологии (Прага)*, 3, 4, 464—481. Andresen, P. H., Mongro, C. W., Hass, G. M., and Madden, D. A., 1958. Conditions which Eliminate Inflammation to Homografts in Rabbits. *Nature*, 182, 4647, 1452. — Barrett, M. K., 1952. Some Immunogenetic Influences upon Transplanted Tumors. *Cancer Research*, 12, 8, 535—542. — Berenblum, I., and Chain, E., 1938. Studies on the Colorimetric Determination of Phosphate. *Biochem. J.*, 32, 2, 286—294. — Blix, U., Iland, C. N., and Stacey, M., 1954. The Serological Activity of Deoxyribonucleic Acids. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 35, 3, 241—251. — Dixon, F. J., and Weigle, W. O., 1957. The Nature of the Immunologic Inadequacy of Neonatal Rabbits as Revealed by Cell Transfer Studies. *J. Exptl. Med.*, 105, 1, 75—83. — Ehrlich, W. E., Drabkin, D. L., and Forman, C., 1949. Nucleic Acids and the Production of Antibody by Plasma Cells. *J. Exptl. Med.*, 90, 2, 157—167. — Fagraeus, A., et Grabar, P., 1953. Etudes sur le transfert à des lapins neufs de la capacité de production d'anticorps par des fragments de rate d'animaux immunisés. *Ann. Inst. Pasteur*, 85, 1, 34—47. — Ford, C. E., Hamerton, J. L., Barnes, D. W. H., and Loutit, J. F., 1956. Cytological Identification of Radiation — Chimaeras. *Nature*, 177, 4506, 452—454. —

- Gartler, S. M., 1959. Cellular Uptake of Deoxyribonucleic Acid by Human Tissue Culture Cells. *Nature*, **184**, 4697, 1505—1506. — Grabar, P., Courcon, J., Ilberg, P. L. T., Loutit, J. F., et Merrill, J. P., 1957. Etude immuno-électrophorétique du sérum de souris irradiées par des doses letales de rayons X et protégées par des cellules de la moelle osseuse de rats. *Compt. rend. Acad. Sci.*, **245**, 10, 950—952. — Harris, T. N., Harris, S., Beale, H. D., and Smith, J. J., 1954. Studies on the Transfer of Lymph Node Cells. IV Effects of X-Irradiation of Recipient Rabbits on the Appearance of Antibody after Cell Transfer. *J. Exptl. Med.*, **100**, 3, 289—300. — Hašková, V., and Mitchison, N. A., 1958. Migration of Spleen Cells from Subcutaneous Implantation Sites. *Nature*, **182**, 4632, 410. — Holub, M., 1958. Antibody Production by Lymphocytes after *in vitro* Contact with Bacterial Antigen and Transfer to New-Born Rabbits. *Nature*, **181**, 4602, 122. — Hruběšová, M., Askonas, B. A., and Humphrey, J. H., 1959. Serum Antibody and  $\gamma$ -Globulin in Baby Rabbits after Transfer of Ribonucleoprotein from Adult Rabbits. *Nature*, **183**, 4654, 97—99. — Jeter, W. S., Laurence, K. A., and Seebohm, P. M., 1957. Analysis of Leucocytic Extracts from Guinea Pigs Hypersensitive to Tuberculin and 2,4-Dinitrochlorobenzene. *J. Bacteriol.*, **74**, 5, 680—683. — Landy, M., and Pillemmer, L., 1956. Increased Resistance to Infection and Accompanying Alteration in Properdin Levels Following Administration of Bacterial Lipopolysaccharides. *J. Exptl. Med.*, **104**, 3, 383—409. — Lanni, F., Dillon, M. L., and Beard, J. W., 1950. Determination of Small Quantities of Nitrogen in Serological Precipitates and Other Biological Materials. *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.*, **74**, 1, 4—7. — LaVia, M. F., Simmons, E. L., and Denko, J. D., 1958. Antibody Formation in X-Irradiated Rats Protected with Rat or Rabbit Hematopoietic Cells. *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.*, **98**, 2, 215—218. — Lawrence, H. S., 1955. The Transfer in Humans of Delayed Skin Sensitivity to Streptococcal M Substance and to Tuberculin with Disrupted Leucocytes. *J. Clin. Invest.*, **34**, 2, 219—230. — Ørskov, J., and Kauffmann, F., 1937. Untersuchungen über die Typhusimmunität der Maus. *Z. Hyg. und Infektionskrankh.*, **119**, 65—71. — Porter, K. A., 1960. Runt Disease and Tolerance in Rabbits. *Nature*, **185**, 4715, 789—790. — Schwander, H., and Signer, R., 1950. Darstellung von hochmolekularem Natrium-thymonucleinat aus Kalbthymus. *Helv. Chim. Acta*, **33**, 6, 1521—1526. — Schwartz, E. E., Upton, A. C., and Congdon, C. C., 1957. A Fatal Reaction Caused by Implantation of Adult Parenteral Spleen Tissue in Irradiated F<sub>1</sub> Mice. *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.*, **96**, 3, 797—800. — Schweet, R. S., and Owen, R. D., 1957. Concepts of Protein Synthesis in Relation to Antibody Formation. *J. Cellular and Compar. Physiol.*, **50**, suppl. 1, 199—228. — Snell, G. D., 1957. Incompatibility Reactions to Tumor Homotransplants with Particular Reference to the Role of the Tumor. *Cancer Research*, **17**, 1, 2—10. — Sterzl, J., 1955. The Demonstration and Biological Properties of the Tissue Precursor of Serum Antibodies. *Folia biol. (Ceskosl.)*, **1**, 4, 193—205. — Topley, W. W. C., 1930. The Role of the Spleen in the Production of Antibodies. *J. Pathol. and Bacteriol.*, **33**, 2, 339—351. — Weyzen, W. W. H., and Vos, O., 1957. Production of Rat Serum Proteins in Irradiated Mice. *Nature*, **180**, 4580, 288—289.

## IMMUNOLOOGILISE REAKTIIVSUSE ÜLEKANDMISEST POSTNATAALSEL PERIOODIL

Ü. Pavel

*Resümee*

Uuriti võimalust täiskasvanud küüliku põrnast isoleeritud desoksüribonukleoproteiidiga (DNP) varasel sünnijärgsel perioodil esile kutsuda immunoloogilist reaktiivsust. Doonoritena kasutati kolmekuiseid ja vanemaid viini sinist tõugu küülikuid. Retsipientidena kasutati sama tõugu viie päeva vanuseid isendeid, keda 9 päeva pärast immuniseeriti *E. coli* vaktsiiniga. Retsipientide reageerimist bakteriaalsele ärritusele uuriti nende 14., 21. ja 28. elupäeval. DNP ei kiirendanud immunoloogilise küpsuse saabumist (ei tekkinud antikehade vastust, ega suurenenud oluliselt globuliinide hulk. Käsitleti DNP võimalikku osatähtsust adaptatiivses proteosünteesis.

*Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Eksperimentaalbioloogia Instituut*

Saabus toimetusse  
10. X 1960

## ON THE TRANSFER OF IMMUNOLOGIC REACTIVITY IN THE POSTNATAL PERIOD

Ü. Pavel

*Summary*

The author studied the possibility of calling forth immunologic reactivity at an early postnatal stage with the help of desoxyribonucleoprotein (DNP) isolated from the spleen of an adult rabbit. As donors three-month-old and older blue Vienna rabbits were used. The recipients were five-day-old individuals of the same breed, who were immunized with *E. coli* vaccine after a lapse of 9 days. The reaction of recipients to bacterial stimulus was studied on their 14th, 21st and 28th days of life. DNP did not speed up the immunologic reactivity (did not call forth any antibody response) and did not increase the amount of globulins to any considerable extent. The author discusses the role of DNP that it may eventually play at an adaptative proteosynthesis.

*Academy of Sciences of the Estonian S.S.R.,  
Institute of Experimental Biology*

Received  
Oct. 10th, 1960