

Вплив антиоваріальної цитотоксичної сироватки на естральний цикл оваріоектомованих самок

Т. М. Зеленська

Відділ по вивченню впливу біологічно активних речовин Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Ще І. І. Мечников [9], а потім О. О. Богомолець [2] встановили, що малі дози цитотоксичних сироваток стимулюють функції клітинних елементів і функціональних систем, щодо яких вони були одержані, тоді як великі дози цих сироваток викликають деструктивні процеси у відповідних тканинах та пригнічення їх функцій.

О. О. Богомолець та його учні провели численні експериментальні та клінічні дослідження в цьому напрямку. О. О. Богомольцем [4] була висунута гіпотеза, що основою стимулюючої дії цитотоксичних сироваток є створення аутолізатів у клітинній протоплазмі під впливом специфічних протиклітинних антитіл — цитотоксинів.

Великі дози цитотоксинів викликають фізичну травму клітинних елементів органа чи системи, що веде до їх пошкодження, і створена при цьому велика кількість продуктів розпаду (аутолізатів) приводить до пригнічення тканини. Тому протиклітинні імунні сироватки були названі цитотоксичними.

Спасокукоцьким [12] було встановлено, що одноразове внутрішнє введення великих доз АПС викликає гостру шокową реакцію. Це явище, урахувавши етіологічний фактор — цитотоксичну сироватку він назвав «цитотоксичним шоком».

В працях Мацуґи [18] і Спасокукоцького [12] було показано, що в основі як загальної, так і місцевої реакції на одноразове введення відповідних цитотоксичних сироваток лежить феномен так званої «зворотної анафілаксії», коли в організм вводять не антиген, а велику кількість антитіл, специфічних для відповідних клітинних елементів, що виконують роль антигена.

Отже, в основі дії цитотоксинів лежить реакція антиген+антитіло, в процесі якої, за дослідженнями М. М. Сиротиніна і Ю. О. Спасокукоцького, втягується комплемент, який являє собою комплекс внутріклітинних ферментів.

В результаті цієї комплексної реакції комплемент інактивується, що при великих дозах цитотоксичних сироваток веде до порушення внутріклітинного метаболізму, об'єктивним показником чого є зниження титру комплементу сироватки крові.

Адо [1] вважає, що реакція антигенів з антитілами відбиває процеси специфічної адсорбції антитіл на антиген з наступними змінами фізико-хімічного стану продукту реакції антиген+антитіло.

На думку Каллоса [17], антитіла фіксуються з антигеном, і цей процес викликає подразнення клітин, що супроводжується посиленням

чи пригніченням функції органа або системи в залежності від кількості введених антитіл.

Пашаєв [1960] встановив, що антитіла впливають на реактивність організму не тільки внаслідок прямого специфічного впливу на відповідний антиген, але й через інтероцептивні первові апарати організму.

Отже, механізм дії цитотоксинів являє собою складну біологічну реакцію, в яку втягується весь організм.

Але багатьма дослідниками встановлено, що цитотоксичні сироватки, для одержання яких було взято тканину всього органа, що містить в собі різні антигени, дає сильніший органний ефект в результаті впливу на всі структурні елементи відповідного органа.

Ці зміни в інших органах зумовлюються наявністю в них загальних антигенів.

Т. М. Зеленська і Т. П. Криштаб (рукопис) в перекресних реакціях зв'язування комплементу показали, що антиестимулярна і антиоваріальна цитотоксичні сироватки з сім'яником і яєчником дають титри 1 : 200, 1 : 320, 1 : 400, а з антигенами, виготовленими з інших органів тварин того ж виду — печінки, селезінки, легенів, головного мозку, — 1 : 10, 1 : 20, 1 : 50 і тільки з ниркою — 1 : 100. Перекресна реакція свідчить про наявність у сироватках, крім специфічних антитіл, незначної кількості неспецифічних, відповідно до складної антигенної структури органів, що були взяті як антиген.

Вітчизняними і зарубіжними авторами була встановлена наявність тісного функціонального зв'язку між різними органами і системами, зокрема між залозами внутрішньої секреції.

Одним з проявів такої взаємної регуляції є виникнення компенсаторних реакцій одних ендокринних залоз при видаленні інших функціонально з ними зв'язаних.

Феодосєєв [13] виявив у кастрованих собак гіперплазію надниркових залоз.

Соколов [11], Кузьменко [8], вивчаючи зміни скоротливої діяльності матки після кастрації, встановили, що тривале функціонування матки пояснюється впливом естрогенів, виділюваних наднирковими залозами.

Дільман (1961) відзначає, що після кастрації або настання менопаузи збільшується продукція естрогенів.

Гарднер [14, 15], Дорфман [16] встановили, що кора надниркових залоз виділяє такі статеві гормони, як естрогени і прожестерон, які беруть участь у регуляції статевого циклу самок.

Воллей [20], Гарднер [15], Франц, Кіршбаум [19] вказують, що при виключенні діяльності статевих залоз надниркові залози компенсують їх функцію.

Ми не знайшли в літературі досліджень про вивчення впливу антиоваріальної цитотоксичної сироватки (АОЦС) на статевий цикл самок при виключенні функції яєчників шляхом оваріоектомії і дії відповідної сироватки, яка містить різні антитіла, що виробилися як на спеціалізовані елементи органа, тобто фолікули і жовті тіла, так і на сполучнотканинну строму, тобто на весь орган в цілому, на надниркові залози оваріоектомованих самок, що мають, за літературними даними, схожі з яєчником антигени.

Як зазначено вище, надниркові залози виділяють естрогени і прожестерон, які беруть участь у регуляції статевого циклу тварин. Тому, якщо впливати антиоваріальною цитотоксичною сироваткою на загальні антигени органа, то, на нашу думку, є можливість посилити здатність надниркових залоз компенсувати у оваріоектомованих самок від-

сутність естрогенів яєчника і тим самим викликати відповідний ефект слизової оболонки піхви у вигляді тічки.

Ці питання і були покладені в основу наших досліджень.

Методика досліджень

Для з'ясування поставленого питання були взяті як модель оваріоектомовані самки. Експериментальні дослідження були проведені на 46 кастрованих самках (білі щури) тримісячного віку, вагою 120—130 г. Кастрацію проводили за методом двобічної оваріоектомії. З метою перевірки повноцінності кастрації щодня на протязі трьох тижнів вивчали цитологію піхвових мазків.

Було проведено чотири серії дослідів (одна з введенням АОЦС і три контрольних).

В першій серії самкам внутрішньо вводили антиоваріальну цитотоксичну сироватку. В залежності від дози і кількості курсів введення сироватки тварини першої серії були поділені на дві групи.

Тваринам першої групи були проведені два чотириденні курси ін'єкцій (щодня по 0,2 мл цільної сироватки на одну ін'єкцію), тваринам другої групи вводили через день по 0,001 мл цільної сироватки, розведеної в 1 мл фізіологічного розчину. Всього було зроблено три ін'єкції сироватки.

Піхвові мазки досліджували перед, під час і після введення сироватки. Крім того, в день введення мазки брали через 3 і 6 годин після ін'єкції. Мазки досліджували зразу ж під мікроскопом, висушували, фіксували метиловим спиртом і фарбували метиленовою синькою. Всього досліджено 1236 мазків.

Контролем були три групи кастрованих самок, яким вводили антиретиккулярну цитотоксичну сироватку (АЦС), нормальну кролячу сироватку (НКС), яка не містить антитіл, в аналогічних умовах і жіночий статевий гормон 0,1%-ний естрадіол бензоат, розведений в периксовій олії по 0,2 мл на введення, який тварини одержували в двох внутрішньовживих ін'єкціях.

Піхвові мазки оцінювали за загальноприйнятою класифікацією Аллена (1922), який показав, що всі зміни, які відбуваються в генітальному апараті щурів, проходять в чотири фази: дієструс (стан функціонального спокою), який характеризується наявністю в мазку лейкоцитів, слизу та окремих епітеліальних клітин; проєструс (стан проліферації), коли в полі зору відзначаються ядерні, епітеліальні клітини, слизу немає; еструс (тічка) — в мазку багато добре окреслених без'ядерних клітин — лусочок і, нарешті, метаструс (фаза розпаду) — в полі зору можна бачити свіжі лейкоцити, скупчення лусочок і окремі епітеліальні клітини.

Результати досліджень та їх обговорення

В результаті проведених дослідів (дані наведені в одній таблиці і трьох рисунках) встановлено, що введення оваріоектомованим самкам специфічної антиоваріальної цитотоксичної сироватки не викликає ніяких зрушень в цитологічному рисунку піхвових мазків, які у кастрованих самок характеризуються тільки наявністю лейкоцитів, слизу й окремих епітеліальних клітин як перед, так і після введення сироватки (рисунок, а).

Кількісна оцінка наявності клітин у піхвових мазках проводилась за трибальною системою: наявність великої кількості клітин (+++), середньої (++) , незначної (+), відсутність (—).

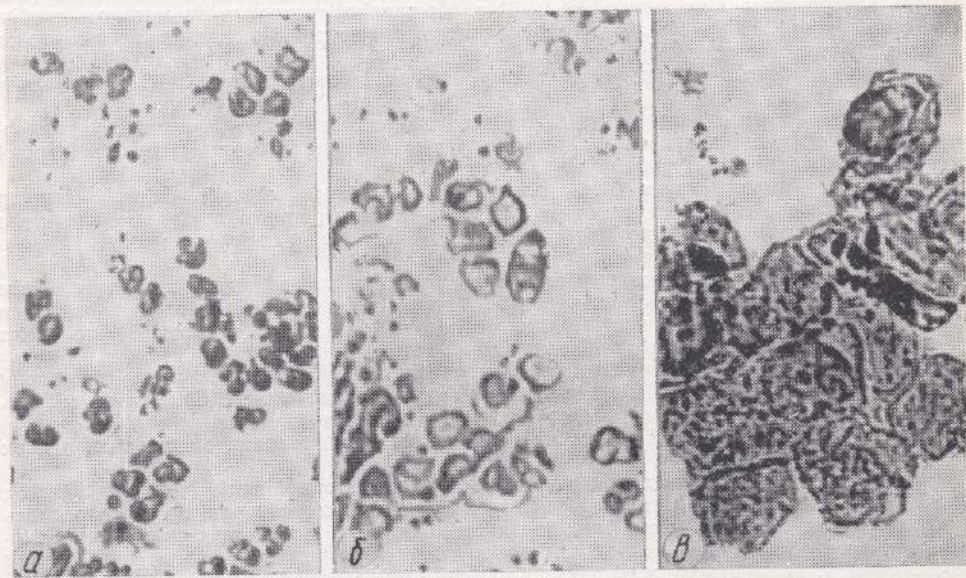
З таблиці можна бачити, що введення великих доз специфічної антиоваріальної цитотоксичної сироватки не викликає реакції слизової оболонки піхви протягом усього дослідження. В піхвових мазках таких самок можна бачити відокремлені поодинокі лейкоцити, а також їх скупчення (рисунок, б), слиз.

При введенні стимулюючих доз антиоваріальної цитотоксичної сироватки реакція слизової піхви також відсутня.

В контролі введення неспецифічної щодо яєчника антиретиккулярної цитотоксичної сироватки і нормальної кролячої сироватки, яка не містить антитіл, дало аналогічні результати.

У досліджених нами [6, 7] старих некастрованих самок із зниже-

ною і порушеною в зв'язку з віком функціональною діяльністю яєчників, зокрема у самок, у яких в статевому циклі відзначається перевага стану дієструса (функціональний спокій), коли в мазках виявляються лейкоцити, слиз і окремі епітеліальні клітини, після застосування аналогічних стимулюючих доз антиоваріальної цитотоксичної сироватки спостерігається тенденція до нормалізації статевого циклу, що виявляється не тільки в регулярній появі тічки у більшій кіль-



Піхвові мазки кастрованих самок.

а — до введення сироватки. В полі зору лейкоцити. *б* — після дії антиоваріальної цитотоксичної сироватки. В полі зору лейкоцити. *в* — після введення 0,1%-ного estradiol benzoate. В полі зору злущений ороговілий епітелій. Мікрофото. Ок. 20, об. 20.

кості тварин (в мазках лусочки ороговілого епітелію), а й у відновленні відповідної послідовності стадій.

В таблиці наведені результати дослідів піхвових мазків кастрованої самки після введення гормону. З таблиці видно, що вже через 24 год після введення естрадіолу в мазках відсутні лейкоцити і з'являється значна кількість великих округлих ядерних клітин (передтічка), а через 48 год — тічка, яка характеризується наявністю злущених, без'ядерних клітин епітелію (лусочок). Ефект появи тічки пояснюється дією естрогенного гормону, який у кастрованих самок викликає характерні проліферативні зміни слизової піхви, які проявляються у формі тічки (рисунк, *в*).

Таке становище чистої стадії лусочок тривало протягом п'яти днів, а наступні шість днів у піхвових мазках кількість лусочок зменшується, а також збільшується вміст лейкоцитів, а на 15—25-й тижень картина мазків нічим не відрізняється від картини мазків до дослідів, тобто лейкоцити, слиз і окремі епітеліальні клітини є основними складовими частинами мазків.

Відсутність реакції піхвового епітелію на введення антиоваріальної цитотоксичної сироватки пояснюється тим, що відсутня точка прикладання для антигена, яким в даному випадку є яєчник, для дії введених антитіл (оваріоцитотоксинів).

Отже, одержані нами результати узгоджуються з поглядом авторів [18, 2, 3, 4, 12], які показали, що для прояви специфічної дії цито-

Зміни естрального циклу оварієктомованої самки під впливом різних факторів

Клітинний склад мазків	До дослідження	Дні дослідження після дослідження													
		1	2	3	4	5	7	8	9	10	11	12	15	25	
Антиоваріальна цитотоксична сироватка															
Лейкоцити	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
Епітеліальні клітини . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Слиз	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Лусочки	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
estradiol benzoate (0,1%)															
Лейкоцити	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	
Епітеліальні клітини . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Слиз	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Лусочки	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

Примітка. ++ велика кількість клітин, + середня, + незначна, — відсутність.

токсичних сироваток потрібна зустріч антитіла з відповідним антигеном.

Наші припущення про можливість одержання відповідного ефекту з боку слизової піхви у вигляді тічки шляхом дії антиоваріальної цитотоксичної сироватки на надниркові залози, що мають, за літературними даними, схожі з яєчником антигенні структури, не виправдались, що також свідчить про специфічність дії даної сироватки.

Отже, з одержаних даних можна зробити такі висновки:

1. Введення АОЦС овариоектомованим самкам не викликає змін в піхвових мазках, які свідчили би про появу стадії тічки.

2. Для прояву специфічної дії АОЦС необхідна наявність відповідного органа — яєчника.

Література

1. Адо А. Д.—Патологическая физиология, 1957, 129.
2. Богомолец А. А.—К вопросу о микроскопическом строении и физиол. значении надпочечных желез в здоровом и больном организме, Одесса, 1909.
3. Богомолец А. А.—Врачебное дело, 1936, 1, 1.
4. Богомолец О. А.—Цитотоксины в современной медицине, 1960, 11, 103.
5. Дильман В. М.—Клиническое применение половых гормонов и их аналогов, 1961.
6. Зеленская Т. М.—В сб.: Соврем. вопросы геронтол. и гериатрии. Материалы I Закавказской научной конф., Тбилиси, 1965, 78.
7. Зеленская Т. М.—Тезисы докл. III Укр. конфер. патофизиологов, Одесса, 1966, 77.
8. Кузьменко Е. С.—Механизмы действия гормонов, 1959, 197.
9. Мечников И. И.—Акад. собр. соч. М., 1962, XV, 34.
10. Пашаев Т. Г.—Цитотоксины в современной медицине, 1960, 2, 107.
11. Соколов А. П.—К вопросу о влиянии удаления яичников на матку (экспериментальные исследования), 1895, М., 187.
12. Спасокукоцкий Ю. А.—Цитотоксины в современной медицине, 1956, 56.
13. Феодосьев Н. Е.—Русский врач, 1906, 5, 5, 135.
14. Gardner W.—Cancer Research, 1941, 1, 345, 632.
15. Gardner W.—Recent Progr. Hormone Res., 1947, 1, 217.
16. Dorfman R., Gardner W.—Endocrinology, 1944, 34, 421.
17. Kallos (1952)—Цит. за П. Ф. Здрадовським, 1963, в кн.: Проблемы инфекции иммунитета и аллергии.
18. Macugi—Beith. Path. Anat., 1933, 91, 82.
19. Frantz M., Kirschbaum A.—Cancer Research, 1949, 9, 257.
20. Wolley G. W. Little C. C.—Cancer Research, 1945, 5, 211.

Надійшла до редакції
15.XI 1966 р.

Влияние антиовариальной цитотоксической сыворотки на эстральный цикл овариоектомированных самок

Т. М. Зеленская

Отдел по изучению действия биологически активных веществ Института физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

Резюме

В эксперименте находились овариоектомированные самки лабораторных белых крыс в возрасте трех месяцев, у которых изучалась цитология влагалищных мазков до, во время и после введения антиовариальной цитотоксической сыворотки (0,2 мл цельной сыворотки на введение, четыре дня, ежедневно и 0,001 мл цельной сыворотки, разведенной в 1 мл физиологического раствора через три дня на четвертый; всего три инъекции).

Контролем служили три группы овариоэктомированных самок, которым вводились антиретиккулярная цитотоксическая сыворотка (АЦС) и нормальная кроличья сыворотка (НКС) в аналогичных дозах, а также группа животных с внутримышечным введением женского полового гормона (0,1%-ный estradiol benzoatae), разведенного в персиковом масле по 0,2 мл на введение. В результате проведенных исследований установлено, что внутривенное введение АОЦС не вызывает изменений в картине влагалищных мазков овариоэктомированных самок, и что для проявления специфического действия АОЦС необходимо наличие соответствующего органа — яичника.

Effect of Antiovarial Cytotoxic Serum on Extral Cycle in Ovarioectomated Females

T. M. Zelenskaya

*Division on studying of the effect of biologically active substances, the A. A. Bogomoletz,
Institute of Physiology, Academy of Sciences, Kiev.*

Summary

Ovarioectomated females of laboratory albino rats at an age of three months were studied. Cytology of vaginal smears was tested before, during, and after administration of antiovarial cytotoxic serum (0.2 ml of undiluted serum, per injection, 4 days, 0.001 ml diluted in 1 ml of physiological solution in three days on the fourth; three injections in all).

Three groups of ovarioectomated females whom antireticulas cytotoxic serum (ACS) and normal rabbit serum (NRS) was injected to in the same doses and also a group of animals with intramuscular injection of female sex hormone (0.1% solution of estradiol benzoate) diluted in peach oil of 0.2 ml for an injection were the control ones. As a result of investigation it is stated that intravenous infusion of antiovarial cytotoxic serum (AOCS) does not cause changes in vaginal smears of ovarioectomated females and that the presence of the corresponding organ — the ovary is necessary to manifest AOCS specific action.