

Про антигенні властивості ядер клітин печінки щурів різного віку

А. П. Зайченко

Лабораторія імунології Інституту геронтології АМН СРСР, Київ

Старіння організму зумовлено змінами, які відбуваються в його органах і системах, в клітинах і міжклітинній речовині. Вивченню субстрату і механізмів старіння присвячено багато праць, особливо біохімічних і морфологічних. На різних етапах онтогенезу організм кількісно і якісно істотно змінюється, іншими стають найтонша будова і біохімічна конституція його протоплазми, напруженість і інтимний характер біохімічних процесів у тканинах, динаміка, ступінь повноцінності й особливості багатьох функцій [11].

Зміни, які відбуваються в тканинах організму в процесі онтогенезу, зумовлюють зміну їх антигенної властивості [8, 9]. Велика кількість досліджень, присвячених вивченню антигенних особливостей тканин, переважно стосується раннього періоду онтогенезу — ембріонального і постнатального [1, 3, 7, та ін.]. При вивченні антигенних властивостей тканин пізніших періодів онтогенезу було встановлено, що зміни, які відбуваються в них у процесі старіння, супроводжуються зниженням антигенної активності. Для з'ясування ролі цих змін в життєдіяльності організму, а також визначення більш точної їх локалізації, має значення вивчення антигенних особливостей не тільки цільної тканини, а й органів її клітин — ядер, мітохондрій, мікросом тощо, оскільки відомо, що кожному з них властива відповідна, характерна тільки для нього функція. Великий інтерес в цьому відношенні становлять ядра клітин, які є головним, якщо не єдиним місцем синтезу нуклеїнових кислот, в них зосереджені основні механізми біологічної інформації і регуляції обміну речовин.

Література з питання про зміни, які відбуваються в ядрах клітин в процесі старіння, представлена невеликою кількістю праць, причому всі вони стосуються переважно морфологічного і біохімічного аспектів — дослідження величини ядер, порушень у хромосом-ядерцевому апараті тощо. Є праці, які вказують на зміни ядерно-цитоплазматичного відношення в клітинах старих тварин [22], але для обґрунтування цього положення переконливих даних не наведено. Багато авторів [2, 24, та ін.], вивчаючи вплив віку на плідність ядер клітин різних органів, відзначають збільшення кількості поліплоїдних ядер в зв'язку з віком. Куртіс [17] вказує на значне збільшення мутацій і хромосомних аберацій в соматичних клітинах мишей у порівнянні з молодими. За даними Єрганьяна [25], у деяких старих тварин спостерігається висока анеуплоїдія ядер, яка іноді досягає значних величин — 40—60%.

Досліджень, присвячених вивченню антигенних властивостей ядер, в літературі є мало [16, 21], а побудованих у віковому розрізі зовсім нема.

Тому наша увага була повернута до вивчення цього питання, яке має велике теоретичне і практичне значення.

В даній роботі було поставлене завдання вивчити антигенні властивості ядер клітин печінки щурів різних вікових періодів.

В дослід були взяті щури трьох груп: одномісячні, шестимісячні і віком 24—28 місяців (старі).

Ядра клітин були одержані за методом Хогбума і Шнейдера [20] в модифікації Даунса [18]. ДНП виділяли з печінки за методом Мирського і Поллістера [23]. Для збереження нативної структури ДНП після декількох переосаджень не висушували, а розчиняли в охолоджену 1М розчині хлористого натрію і зберігали в холодильнику при температурі від +2 до +4°С.

Про антигенну властивість ядер і ДНП судили за титром антитіл, одержуваних в імунних сироватках проти цих антигенів, для чого була використана реакція зв'язування комплементу (РЗК).

Ядрами клітин печінки щурів трьох вікових груп імунізували 32 кроликів середнього віку (1—1,5 року) породи шиншила, вагою 3—3,5 кг, з них 11 імунізували ядрами клітин печінки щурів одномісячного віку, 11 — ядрами клітин печінки щурів шестимісячних і 10 — старих. Імунізацію провадили триразовим внутрішнім введенням антигену з інтервалами в п'ять днів поступово зростаючими дозами по 10—20—30 мг білка (ядер). На восьмий — десятий день після останнього введення антигену кроликів знекровлювали для одержання імунних сироваток.

Імунізацію ДНП проводили внутрішніми ін'єкціями розчину ДНП в дозах 5—10—15 мг ДНП в переобчисленні на суху вагу. Зменшення дози в порівнянні з ядерним антигеном пов'язано з тим, що ввести значну кількість розчину ДНП (в 1М NaCl) неможливо в зв'язку з виникненням у кроликів шоків реакцій, а при збільшенні концентрації ДНП до 3—3,5 мг/мл утворюється дуже в'язкий розчин, який викликає емболію судин.

Результати дослідження в РЗК сироваток, одержаних при імунізації кроликів ядрами клітин печінки щурів різного віку, наведені на рисунку. В прямій РЗК анти-

ядерними сироватками з «своїм» (в розумінні віку) антигеном було виявлено, що титри антитіл сироваток розміщувались в такому порядку: антисироватки у відношенні до ядер клітин печінки одномісячних щурів вступали в РЗК в середньому титрі 1:360 ($t=14,2$), сироватки проти ядер клітин печінки шестимісячних щурів мали середній титр 1:300 ($t=5,3$), а проти ядер клітин печінки щурів старого віку — 1:160 ($t=4,5$). Це дозволило прийти до висновку, що ядра клітин печінки старих щурів мають найменшу антигенну активність, а найбільш активні в антигенному відношенні ядра клітин печінки одномісячних щурів. Ядра клітин печінки щурів шестимісячного віку займають проміжне положення (різниця статистично вірогідна: в першому випадку $t=3,09$, в другому $t=2,13$).

Ці показники узгоджуються з даними, одержаними П. Д. Марчуком і С. А. Король [9] для цільної тканини печінки і мітохондрій, виділених з неї.

Для з'ясування питання про вікову специфічність ядер була поставлена перехресна РЗК антиядерними сироватками з ядрами (як антиген), виділеними з печінки щурів іншого віку. При цій постановці реакції закономірної різниці в титрах виявлено не було.

Встановлений факт, який вказує на зниження антигенної активності досліджуваних ядер, висунув питання, чим зумовлене це зниження, чи є воно результатом змін, які відбуваються в ДНП клітин печінки щурів в зв'язку з віком тварин.

Щоб з'ясувати це питання, була проведена серія досліджень на 15 кроликах, яких імунізували ДНП, виділеними з печінки шестимісячних (молодих) і старих щурів. Теоретичним обґрунтуванням такої постановки дослідів послужили наведені в літературі дані про те, що з віком в молекулі ДНП відбуваються деякі зміни, зокрема збільшується кількість гістонів, зв'язаних з молекулою ДНК, які, можливо, є інгібіторами цистронів молекули ДНК, що визначають синтез специфічних білків [12, 15], при цьому змінюються деякі фізичні властивості ДНК [19], відбувається часткова денатурація і фрагментація її молекул [5], з'являються фрагменти із зміненим складом основ [14].

Результати проведених досліджень наведені в табл. 1.

З таблиці видно, що всі імунні сироватки, незалежно від того, при імунізації яким антигеном вони були одержані, мають приблизно однакові титри (1:80 — 1:160). Отже, ці досліді не дозволили виявити вікові особливості ДНП. Можливо, одержані дані пояснюються тим, що сам процес вилучення ДНП — механічна обробка тканин, переосадження розчину ДНП тощо — впливає на фізико-хімічний стан субстрату і нівелює вікові особливості, приводячи їх в антигенному відношенні до однієї якості. На це вказує і той факт, що співвідношення азоту і фосфору в одержуваних препаратах ДНП не постійне і коливається в межах 3,55—5,94.

Наступна серія дослідів була поставлена з метою з'ясування ролі ДНП в антигенності ядер, при цьому антиядерні сироватки були досліджені в РЗК з антигеном із ДНП. Результати проведених дослідів наведені в табл. 2.

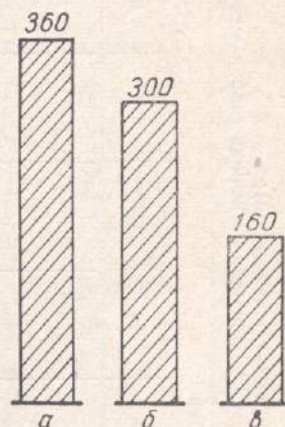
З цієї таблиці видно, що титри сироваток при постановці РЗК з ДНП або збігалися, або були близькими до тих, які виявлялись з антигеном із ядер. Ці дані свідчать про те, що антигенну функцію ядра значною мірою виконує дезоксирибонуклеопротейд. Такі результати узгоджуються з даними Г. П. Георгієва, Л. П. Ермолаєвої та і. Б. Збарського [4], які, вивчаючи біохімічний склад ядра, прийшли до висновку, що основну масу ядра — близько 70% — становить ДНП.

Було поставлено також ряд перехресних реакцій зв'язування комплексу, в яких антиядерні сироватки з'єднували з антигенами із ДНП печінки щурів різного віку. Одержані в такій постановці дослідів результати не дали можливості зробити висновок про вікові особливості цих антигенів.

Отже, на основі проведених дослідів можна зробити висновок, що ядра клітин печінки щурів старого віку характеризуються більш слабкою антигенною властивістю у порівнянні з ядрами клітин печінки одномісячних і шестимісячних щурів.

Вікової різниці в антигенності ДНП, вилучених з печінки щурів, в даній постановці дослідів не виявляється.

Можна також висловити припущення, що якісні зміни білків тварин, які відбуваються в процесі старіння [13], позначаються і на якісних змінах білків ядер клітин, або ж можливі кількісні переміщення фракцій індивідуальних білків ядер [10], збільшення вмісту фракцій менш антигенних білків, що зумовлює зміну антигенної активності.



Титри сироваток при імунізації кроликів ядрами клітин печінки щурів:

а — одномісячні; б — шестимісячні, в — старші 24 місяців.

Таблиця 1

Реакція зв'язування комплекменту сироватки проти ДНП (пряма та перехресна);
антигени — ДНП печінки шестимісячних та старих щурів; сироватки проти ДНП, одержаних з печінки старих щурів

№ сироватки	Антиген	Розведення сироватки 1:										КА	КС
		10	20	40	50	80	100	160	200	320	400		
1	стар.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	6-міс.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
30	стар.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	6-міс.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
25	стар.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	6-міс.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
27	стар.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	6-міс.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
32	стар.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	6-міс.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
33	стар.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	6-міс.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—

Сироватки проти ДНП, одержаних з печінки шестимісячних щурів

17	6-міс.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	стар.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
28	6-міс.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	стар.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
34	6-міс.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	стар.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
35	6-міс.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	стар.	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—

Позначення. КА — контроль антигену; КС — контроль сироватки.

Таблиця 2

Реакція зв'язування комплексу сироватки проти ядер клітин печінки шурів (пряма та перехресна)
антигени — ядра клітин та ДНП печінки шурів

№ сироватки	Антиген	Розведення сироватки 1:										КА	КС
		10	20	40	50	80	100	160	200	320	400		
2	ядра	++	++	++	++	++	++	+	—	—	—	—	—
	ДНП	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
3	ядра	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	ДНП	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
4	ядра	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	ДНП	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
5	ядра	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	ДНП	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
6	ядра	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	ДНП	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
9	ядра	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
	ДНП	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
13	ядра	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
	ДНП	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
14	ядра	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
	ДНП	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
15	ядра	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
	ДНП	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
16	ядра	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—
	ДНП	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	—

Позначення: КА — контроль антигену; КС — контроль сироватки.

Позначення: КА — контроль антигену; КС — контроль сироватки.

Література

1. Аверкина Р. Ф.— Бюлл. exper. биол. и мед., 1956, 41, 2, 70.
2. Бродский В. Я., Куш А. А.— Докл. АН СССР, 1962, 147, 3, 713.
3. Вязов О. Е.— В кн.: Иммунология эмбриогенеза, Гос. издат. мед. лит., М., 1962.
4. Георгиев Г. П., Ермолаева Л. П., Збарский И. Б.— Биохимия, 1960, 25, 2, 318.
5. Гольдштейн Б. І., Герасимова В. В.— Укр. біохім. журн., 1963, 35, 1, 3.
6. Клименко А. И.— Биохимия, 1964, 29, 5, 85.
7. Конюхов Б. В.— Успехи соврем. биол., 1958, 45, 1, 97.
8. Марчук П. Д., Король С. А., Бережная Н. Е.— В кн.: Вопросы геронтологии и гериатрии, Гос. издат. мед. лит., Л., 1962, 36.
9. Марчук П. Д., Король С. А.— Материалы конфер. венгерских геронтологов, Будапешт, 1962, 46.
10. Нагорный А. Б., Никитин В. Н., Буланкин И. Н.— В кн.: Проблемы старения и долголетия, Медгиз, 1963, 101.
11. Никитин В. Н.— Успехи соврем. биол., 1963, 56, 3, 403.
12. Рапопорт Э. А.— Успехи соврем. биол., 1965, 59, 1, 57.
13. Сисакян Н. М.— Успехи соврем. биол., 1961, 51, 2.
14. Хиллобок І. Ю.— Укр. біохім. журн., 1965, 37, 1, 43.
15. Allfrey W. G., Littau V. C., Mirsky A. E.— Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.), 1963, 49, 414.
16. Bigley N. J., Dodd M. C., Geyer V. B.— J. Immunol., 1963, 90, 3, 416.
17. Curtis H.— Science, 1963, 141, 3582, 686.
18. Dounce A.— В сб.: Нуклеиновые кислоты. ИЛ, 1957, 51.
19. Hahn H. P., Verzar F.— Gerontologia, 1963, 7, 2, 105.
20. Hogeboome G. H., Schneider W. C.— J. Biol. chem., 1952, 197, 611.
21. Michel P., Cooper N. S., Benacerraf B.— J. Immunol., 1960, 85, 1, 27.
22. Minot C. S.— Цит. за Б. Стреллером. В кн.: Время, клетки и старение. Изд-во «Мир», 1964, 172.
23. Mirsky A. E., Pollister A. W.— J. Gen. physiol., 1946, 30, 117.
24. Swartz F. J.— Chromosoma, 1956, 8, 1, 13.
25. Yerganian G., Gagnon H.— Proc. Am. Assoc. Cancer Research., 1958, 2, 358.

Надійшла до редакції
13.VIII 1965 р.

Патоморфологічні зміни в серці, легенях, селезінці і корі головного мозку щурів, опромінених швидкими нейтронами

Т. Б. Герасимова

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця Академії наук УРСР, Київ

Сучасна радіобіологія має численні експериментальні дані, які вказують на те, що іонізуюче випромінювання викликає істотні зміни в органах і тканинах тварин, опромінених рентгенівським або гамма-промінням. Зокрема, показано, що при цих видах випромінювання значно уражується легенева тканина [4, 7, 10, 12, 15], серце [3, 5, 14], селезінка [13, 17], головний мозок [1, 2].

Літературні дані, присвячені змінам, викликаним швидкими нейтронами, дуже обмежені.

Деякі автори [18], які вивчали патогенез внутрілегеневих крововиливів при загальному опроміненні нейтронами в дозі 400 *rd*, відзначили, що перибронхіальні крововиливи виникають до дев'ятого дня, а периваскулярні до 13 дня після опромінення. У кровоносних судинах легень найбільші зміни виявлялися в ендотеліальній оболонці.

Віддалений період після впливу нейтронного випромінювання характеризується порушенням регенераторної здатності тканини [11], виникненням новоутворень, серед яких аденоми посідають одне з перших місць [9, 16, 19].

Відомості про дію швидких нейтронів на серце і головний мозок дуже обмежені. Лише в окремих дослідженнях є вказівки на значні зміни, що виникають в міокарді [9, 20, 21]. При гістологічному дослідженні селезінки виявлено [1, 4], що швидкі нейтрони і рентгенівське проміння діють якісно однаково.

Ми вивчали патоморфологічні зміни, що виникають в серці, легенях, селезінці і корі головного мозку щурів у ранні і віддалені строки після опромінення швидкими нейтронами.