

УДК 612.017

ПОРІВНЯЛЬНА СЕРОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИГЕПАТОЦИТОТОКСИЧНИХ СИРОВАТОК, ОДЕРЖАНИХ ІМУНІЗАЦІЄЮ ТВАРИН ІЗОЛЬОВАНИМИ МІТОХОНДРІЯМИ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ТА ЕКСТРАКТОМ ТКАНИНИ СУЦІЛЬНОЇ ПЕЧІНКИ

Ю. О. Спасокукоцький, І. М. Алексеева, Т. І. Галенко

*Відділ експериментальної терапії Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця
АН УРСР, Київ*

Дані останніх років свідчать про важливу функціональну роль мітохондрій у клітині, про високу чутливість мітохондрій до різних впливів, спрямованих на цілий орган [3, 13]. Тому в плані вивчення дії цитотоксичних сироваток на організм важливе дослідження дії антимітохондріальних сироваток. Одержання і вивчення антимітохондріальної сироватки становить інтерес ще й тому, що органу специфічність пов'язували з ліпоїдним гаптенем мітохондрій і мікросом [1, 12]. На підставі цього можна було сподіватися, що сироватки, одержані імунізацією тварин чистими ізольованими мітохондріями, будуть більш органоспецифічними, ніж сироватки, одержані імунізацією екстрактом суцільної тканини.

Родіонов і Король [5] одержали і вивчали дію антимітохондріальної гепатоцитотоксичної сироватки. Автори відзначають, що антимітохондріальна сироватка має більшу активність і специфічність у порівнянні з антиядерною сироваткою і сироваткою, одержаною імунізацією суцільною печінкою. Уманський і Федоровська [7] встановили, що антимітохондріальна протипухлинна сироватка більш активна щодо пухлини і селезінки та менш активна щодо печінки в порівнянні з контрольною протипухлинною сироваткою.

Проте в останні роки з'явилися відомості про те, що органоспецифічні антигени знаходяться як у мітохондріях і мікросомах, так і в ядрі і цитоплазмі [2, 8, 9]. Крім того, Кашкін [2] показав, що більша кількість органоспецифічних антигенів печінки щурів знаходиться в клітинному соку, а не у фракції мітохондрій і мікросом.

Досвід роботи нашого відділу по вивченню дії різних цитотоксичних сироваток свідчить про значну органу специфічність сироваток, одержаних імунізацією тварин екстрактом тканини цілого органа.

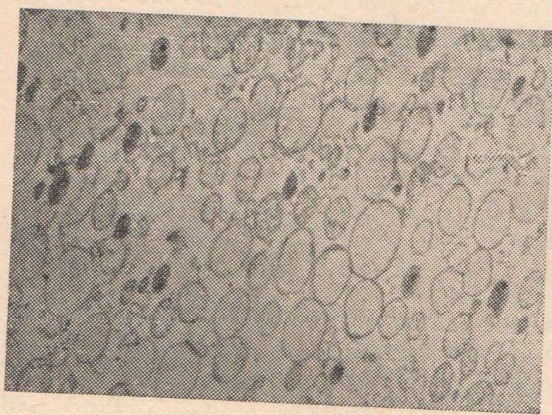
Питання про специфічність цитотоксичних сироваток і засоби підвищення цієї специфічності потребує дальшої розробки.

Метою наших досліджень було одержання антимітохондріальної гепатоцитотоксичної сироватки, вивчення її серологічної характеристики в порівнянні з антигепатоцитотоксичною сироваткою, одержаною імунізацією екстрактом тканини суцільної печінки.

Методика досліджень

Для порівняння ступеня імунологічної активності і органної специфічності сироваток, одержаних імунізацією ізольованими мітохондріями (антимітохондріальна гепатотоксична сироватка — АМГЦС) і імунізацією екстрактом тканини судильної печінки (антигепатотоксична — АГЦС), ми проводили імунізацію тварин за однією схемою однаковою кількістю антигену за білком.

Сироватки готували для білих щурів шляхом імунізації кроликів. Одержано 13 АМГЦС і 11 АГЦС. Шість сироваток (три АМГЦС і три АГЦС) були одержані імунізацією експресним методом [6] три рази через день такою кількістю антигена за білком: 5,0; 7,5; 10,0 мг білка на 1 кг ваги кролика. 12 сироваток (шість АМГЦС і шість АГЦС) були одержані двома триразовими циклами імунізації з інтервалом в півтора місяця такою кількістю антигена за білком: 2,0; 3,0; 5,0 мг білка на 1 кг ваги в першому циклі і 5,0; 7,5; 10,0 мг білка на 1 кг ваги — в другому циклі. Шість сироваток (чотири АМГЦС і дві АГЦС) були одержані за такою схемою: 70 мг білка на кролика вводили під шкіру з повним ад'ювантом Фрейнда, а потім через вісім днів 11 раз через день антиген в кількості 17,5 мг білка вводили внутрішньо без ад'юванта.



Електронномікроскопічна фотографія ізольованих мітохондрій клітин печінки. 36. $\times 10800$.

Надосадову рідину центрифугували 20 хв при 18 000 об/хв. При цьому осаджували мітохондрії. Всі процедури проводили на холод. Осад мітохондрій ресуспендували в фізіологічному розчині, визначали в ньому вміст білка та імунізували ним тварин. Електронномікроскопічна фотографія ізольованих мітохондрій печінки щурів наведена на рисунку.

Електронномікроскопічний аналіз виділених нами мітохондрій проведено в лабораторії гематології і цитохімії Київського інституту ендокринології та обміну речовин МОЗ УРСР.

Водносольовий екстракт тканини печінки щура готували розтиранням з фізіологічним розчином печінки, звільненої від основної маси сполучнотканинних структур. Для імунізації використовували надосадову рідину 10%-ного гомогенату після центрифугування на протязі 7 хв при 1500 об/хв.

Білок в антигені визначали за методом, описаним Палладінім і Кірсенко [4]. Одержані нами імунні сироватки вивчали в реакції зв'язування комплексу, визначали їх титр з мітохондріями печінки, з гомогенатом печінки і гомогенатами інших органів: нирки, селезінки, серця, скелетного м'яза і сім'яника. Антиген для реакції готували так само, як і для імунізації.

Титр сироватки в реакції зв'язування комплексу виражали максимальним розведенням сироватки, в якому була затримка гемолізу на чотири хреста.

Результати досліджень та їх обговорення

В таблиці наведені дані серологічної характеристики АМГЦС і АГЦС.

АГЦС, одержана імунізацією екстрактом тканини печінки, дещо активніше реагує з ізольованими мітохондріями, ніж з гомогенатом печінки (хоч ця різниця статистично недостовірна). З гомогенатами інших органів АГЦС реагує, але в меншій мірі, ніж з печінкою. Най-

Порівн

більш
77,9%
сім'я

С

Вид
сироват

АГЦС

АМГ

дрія
стич
у та
АМГ
Далної
(тит
ми
нем
рехр
тивн
АМГ
селе
є стніж
очев
викс
схо
на врин
фіці
цілнатс
сир
ват1. А
7
2. І
3. І
І

більшу спорідненість виявляє вона до нирки (титр з ниркою становить 77,9% від титра з печінкою), далі за ступенем близькості слідує сім'яник, селезінка, м'яз і серце.

Серологічна характеристика антигепатоцитотоксичних сироваток за реакцією зв'язування комплементу ($M \pm m$)

Вид сироватки	Титр з екстрактом печінки	Титр з мітохондріями печінки	Титр в перехресних реакціях у процентах до титру з екстрактом печінки, прийнятим за 100%				
			з ниркою	з серцем	з селезінкою	з м'язом	з сім'яником
АГЦС	225 ± 34	256 ± 41	77,9 ± 7,5	15,3 ± 2,3	35,2 ± 4,2	15,4 ± 3,5	46,7 ± 9,9
АМГЦС	298 ± 54	348 ± 69	101,0 ± 4,8	22,5 ± 4,9	47,4 ± 7,0	23,1 ± 5,5	70,7 ± 10,0
	$p > 0,2$	$p > 0,1$	$p < 0,02$	$p < 0,05$	$p > 0,1$	$p > 0,2$	$p > 0,05$

Примітка. Титр виражений у кратності розведення сироватки.

АМГЦС так само, як і АГЦС, дещо активніше реагує з мітохондріями, ніж з гомогенатом суцільної печінки, проте ця різниця статистично недостовірна. За ступенем близькості до неї інші органи стоять у такому ж порядку, як і щодо АГЦС. На першому місці нирка (з нею АМГЦС реагує в такій же мірі, як і з печінкою, а іноді навіть більше). Далі за ступенем близькості йдуть сім'яник, селезінка, м'яз, серце.

Якщо порівняти за імунологічною активністю і ступенем органної специфічності АМГЦС та АГЦС, то виявляється, що за активністю (титр в реакціях з гомогенатом печінки та ізольованими мітохондріями печінки) АМГЦС істотно не відрізняється від АГЦС, а за ступенем органної специфічності набагато поступається перед нею. В перехресних реакціях з гомогенатами всіх органів АМГЦС реагує активніше, ніж АГЦС. Різниця в реакціях з гомогенатом нирки і серця АМГЦС та АГЦС статистично достовірна. В реакціях з гомогенатами селезінки, м'яза і сім'яника різниця такої ж спрямованості, хоч і не є статистично достовірною.

Отже, наші дані показали, що АМГЦС менше органоспецифічна, ніж АГЦС, одержана імунізацією екстрактом суцільної печінки. Це, очевидно, можна пояснити тим, що мітохондрії клітин різних органів виконують схожі, строго специфічні функції і тому можуть мати і схожу антигенну структуру. Деякі літературні дані [2, 13] також свідчать на користь такого умовиводу.

Висновки

1. Антигепатоцитотоксична сироватка, одержана імунізацією тварин ізольованими мітохондріями клітин печінки, менш органоспецифічна, ніж сироватка, одержана імунізацією екстрактом тканини суцільної печінки.

2. За імунологічною активністю в серологічних реакціях з гомогенатом печінки і мітохондріями антимітохондріальна гепатоцитотоксична сироватка істотно не відрізняється від антигепатоцитотоксичної сироватки.

Література

1. Абелев Г. И., Авенирова З. А., Цветков В. С.—Вопр. онкол., 1960, 7, 43.
2. Кашкин К. П.—Бюлл. exper. биол. и мед., 1967, 12, 66.
3. Кондрашова М. Н.—В кн.: Митохондрии. Ферментативные процессы и их регуляция, М., 1968.

4. Палладин А. В., Кирсенко О. В.—Биохимия, 1961, 26, 2, 383.
5. Родионов Г. А., Король С. А.—В кн.: Механизмы старения, К., 1963, 105.
6. Спасокукоцкий Ю. О.—Физиол. журн. АН УРСР, 1964, 6, 709.
7. Уманский Ю. А., Федоровская М. И.—Вопр. exper. онкологии, К., 1965, 173.
8. Хибовский Д., Энгельгардт Н. В., Храмкова Н. И.—Цитология, 1968, 1, 107.
9. Abelev G.—Progr. Exper. Tumor Res., 1965, 7, 104.
10. Berg P., Deborah D., Roitt D.—J. Exp. Med., 1967, 126, 2, 395.
11. Hogeboom G., Schneider W., Striebich M.—J. Biol. Chem., 1952, 196, 1, 111.
12. Rapport M., Graft L.—Cancer., 1957, 10, 438.
13. Roodyn D., Reis P., Work T.—Biochem. J., 1961, 80, 1, 80.

Надійшла до редакції
4.VII 1969 р.

**COMPARATIVE SEROLOGICAL CHARACTERISTICS
OF ANTIHEPATOCYTOTOXIC SERA OBTAINED BY MEANS OF IMMUNIZATION
OF ANIMALS WITH ISOLATED MITOCHONDRIA OF THE LIVER CELLS
AND EXTRACT OF THE WHOLE LIVER TISSUE**

Yu. A. Spasokukotsky, I. N. Alexeeva, T. I. Galenko

*Department of Experimental Therapeutics, the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR*

Summary

The data are cited on the comparative serological characteristic (according to the complement fixation test) of hepatocytotoxic sera obtained by means of rabbit immunization with isolated mitochondria of the liver cells and extracts of the whole liver tissue under strictly analogous conditions by similar quantities of antigen according to protein. It is shown, that antihepatocytotoxic serum obtained by means of immunization with isolated mitochondria of the liver cells is less organospecific, than the serum obtained by immunization with the extract of the whole liver tissue and according to immunological activity in the test of complement fixation with homogenate of the liver it does not essentially differ from the latter.