

функціональні зміни вищерозташованих відділів центральної нервової системи [2, 6, 9, 12, 13], які одержують аферентні сигнали з периферії через систему проміжних нейронів спинного мозку.

Література

1. Атакишиев А. Р.—Арх. анат., гистол., эмбриол., 1962, 7, 100.
2. Богомолова Т. П., Иванов Г. Г., Латманова Л. В., Моносова Ф. Е.—Бюлл. экспер. биол. мед., 1953, 2, 62.
3. Грабченко И. М.—Вопросы онкологии, 1929, 1, 23.
4. Дмитренко В. И.—Динамика химич. факторов первого возбужд. у больных раком шейки матки. Автотеф. канд. дисс., Харьков, 1956.
5. Дышловой В. Д.—Труды VIII Междунар. противорак. конгр., 1963, 3, 497.
6. Зубарева З. П.—Тез. докл. VIII Междунар. противорак. конгр., 1962, 461.
7. Костюк П. Г.—В сб.: Соврем. пробл. электрофизиол. нервн. сист., М., 1964, 115.
8. Латаш Л. П.—Электрич. явления в спинном мозге, М., Медгиз, 1962.
9. Латманова Л. В.—Функ. особен. нервн. сист. при раке. Уч. зап. Ленингр. пед. ин-та, 1956, XX, 6.
10. Мельников А. В., Шевелева В. С.—Вопросы онкологии, 1956, 6, 683.
11. Натадзе Т. Г.—Труды VIII Междунар. противорак. конгр., 1963, 3, 504.
12. Терещенко И. П.—Вопросы онкологии, 1958, 4, 418.
13. Туркевич Н. М.—Вопросы онкологии, 1955, 6, 64.
14. Шевелева В. С.—Тез. докл. II съезда онкологов и III съезда рентгенол. и радиол. УССР, К., 1956, 27.
15. Шевелева В. С.—Бюлл. экспер. биол. мед., 1959, 10, 69.
16. Экклс Дж.—Физиология нервных клеток, ИЛ, М., 1959.
17. Экклс Дж.—Физиология синапсов, М., «Мир», 1966.
18. Екклс Дж., Костюк П. Г., Шмідт Р. Ф.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1962, I, 21.
19. Beswick F., Evanson J.—J. Physiol., 1957, 135, 2, 400.
20. Eccles J., Rall W.—Proc. Roy. Soc. Biol., 1951, 138, 475.
21. Wall P.—J. Physiol., 1962, 164, 3, 508.

Надійшла до редакції
23.VII 1969 р.

УДК 612.017

УТВОРЕННЯ КОМПЛЕМЕНТЗ'ЯЗУЮЧИХ ТА ПРЕЦІПІТУЮЧИХ АНТИТІЛ ПРИ РІЗНИХ СХЕМАХ ІМУНІЗАЦІЇ ТВАРИН ТКАНИННИМ АНТИГЕНОМ

І. М. Алексєєва

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

Працями багатьох дослідників доведено, що антитіла, які утворюються в організмі до одного і того ж антигену, є гетерогенними [1]. Навіть антитіло до одної антигенної детермінанти варіабельні за своїми властивостями [12]. На утворення антитіл з певними фізико-хімічними властивостями впливає засіб імунізації: тривалість, місце введення антигену, його кількість, а також індивідуальні особливості тварини-продукента.

Антитіла, які з'являються на ранніх етапах імунізації, у пізні строки і в так званій гіперімунній сироватці, відрізняються за константою седиментації, електрофоретичною рухомістю, аніонз'язуючу здатністю та іншими властивостями [1, 8, 10]. Встановлено, що антитіла, які утворюються селезінкою і екстраселезінковою лімфоїдою тканиною, відрізняються за своїми фізико-хімічними властивостями [10].

Переважна роль селезінки або регіонарних лімфатичних вузлів в імуногенезі зумовлюється місцем введення антигену, його кількістю, кратністю введення [3, 4, 6, 9]. У самій селезінці різні клітини виробляють антитіла з різними фізико-хімічними властивостями [13].

Є дані про те, що різні за біологічними властивостями антитіла (преціпітуючі та аглютинуючі) мають і різні фізико-хімічні властивості. Так, Бенедикт з співавторами [8] встановили, що кролячі пресіпітуючі антитіла проти бічачого сироваткового альбуміну рухаються в електричному полі як γ -глобуліни, а аглютинини мігрують разом з γ - та β -глобулінами.

Гетерогенність антитілного антигену, яким є екстракт протигранінних цитотоксичних перш за все, за своїми серкові та полісахаридні антигени, тоді як корпушкульних антигена.

Цікаво було з'ясувати, за своїми серологічними властивостями.

З цією метою ми застосували антигеном (екстрактом па печінки щурів) для порівняння пресіпітуючих антитіл.

I схема — експресний ція внутрішньо три-чотири кг ваги тварин: 1,8; 2,7; 3 У цій серії було 12 тварин хондріями печінки.

II схема — імунізація лом у півтора місяця. Ко через день такою кількістю 5,0 мг у першому циклі введеного білка — 35,0 мг/кг зовні екстрактом печінки

III схема — імунізація стимулятором Фрейнда і т. У третьій серії було вісім і мітікохондріями кроликів.

IV схема — імунізація Фрейнда протягом п'яти тижнів 1 кг ваги кролика через разів через день внутрішньо — 103 мг/кг. У серії було імунізовані мітікохондріями.

У досліді брали тварини кожну серію дослідів.

Мітікохондрії з клітин Білок в антигені визначали. На дев'ятій день після вакцинації визначали титр комплементу і титр пресіпітуючої пресіпітації в реакції пресіпітації.

Титр сироватки в результаті зовнішнім сироватки, пр. + + + .

В реакції кільцепрещінену, яке дає кільце пресіпітації при 37° білка в 1 мл розчину антигену.

Реакцію пресіпітації вимірювали [2], з урахуванням кількох реагентів (розчинування а із зміщенням центром).

Результати

Результати дослідів на ція експресним методом (I та також пресіпітуючих антигенах) показали, що особливо чітко видно з того, що дала одну слабку д.

Гетерогеність антитіл підвищується при застосуванні для імунізації комплексного антигену, яким є екстракт з органів і тканин, що застосовується для одержання протигранних цитотоксичних сироваток. Антитіла, що утворюються, відрізняються, перш за все, за своїми серологічними властивостями. Є думка [2], що розчинні білкові та полісахаридні антигени викликають переважне утворення преципітуючих антитіл, тоді як корпушкулярні та ліпопідні антигени — утворення комплементзв'язуючих антитіл.

Цікаво було з'ясувати, чи впливає засіб імунізації на утворення антитіл, різних за своїми серологічними властивостями, до одного і того ж тканинного антигену.

З цією метою ми застосовували чотири схеми імунізації кроликів тканинним антигеном (екстрактом паренхіми печінки та ізольованими мітохондріями клітин печінки шурів) для порівняльного вивчення утворення комплементзв'язуючих та преципітуючих антитіл.

Методика досліджень

Схеми імунізації

I схема — експресний метод одержання цитотоксичних сироваток [7] — імунізація внутріенно три-четири рази через день такою кількістю антигену за білком на 1 кг ваги тварини: 1,8; 2,7; 3,5; 5,0 мг. Загальна кількість введеного білка — 13,0 мг/кг. У цій серії було 12 тварин (шість — імунізовано екстрактом печінки і шість — мітохондріями печінки).

II схема — імунізація двома циклами внутрівенных введень антигену з інтервалом у півтора місяця. Кожен цикл складався з трьох-четирьох введень антигену через день такою кількістю антигену за білком на 1 кг ваги тварини: 1,8; 2,7; 3,5; 5,0 мг — у першому циклі і 5,0; 7,0; 10,0 мг — у другому циклі. Загальна кількість введеного білка — 35,0 мг/кг. У цій серії дослідів було 12 кроликів (шість — імунізовано екстрактом печінки і шість — імунізовані мітохондріями печінки).

III схема — імунізація під шкіру три рази протягом трьох тижнів з повним стимулятором Фрейнда і без стимулятора загальною кількістю білка — 35,0 мг/кг. У третьій серії було вісім тварин (шість — імунізовані екстрактом паренхіми і дві — імунізовані мітохондріями клітин печінки).

IV схема — імунізація комбіновано внутріенно і під шкіру з стимулятором Фрейнда протягом п'яти тижнів: під шкіру з повним стимулятором — 12 мг білка на 1 кг ваги кролика через тиждень — 28 мг/кг білка, а потім через тиждень дев'ять разів через день внутріенно по 7,0 мг/кг білка. Загальна кількість введеного білка — 103 мг/кг. У серії було п'ять тварин (две імунізовані екстрактом печінки і три імунізовані мітохондріями).

У досліді брали тварин одного віку, однакову кількість тварин однієї статі у кожну серію дослідів.

Мітохондрії з клітин печінки одержували за методом Хогебума та ін. [11]. Білок в антигені визначали за методом Палладіна і Кірсенко [5].

На дев'ятій день після останньої імунізації у кроликів брали кров і в сироватці визначали титр комплементзв'язуючих антитіл за реакцією зв'язування комплементу і титр преципітуючих антитіл за реакцією кільцепріципітації та кількість дуг преципітації в реакції преципітації в агарі.

Титр сироватки в реакції зв'язування комплементу визначали максимальним розведенням сироватки, при якому спостерігалась повна затримка гемолізу на + + +.

В реакції кільцепріципітації титр визначали максимальним розведенням антигену, яке дає кільце преципітації при нашаруванні на антисироватку після півтора годинної інкубації при 37° С. За вихідне розведення антигену приймали вміст 1 г білка в 1 мл розчину антигену.

Реакцію преципітації в агарі ставили за методом, описанним Зільбером і Абелевим [2], з урахуванням кількості дуг преципітації при оптимальному співвідношенні реагентів (розтирування антигену і антисироватки, а також постановка у штампі із зміщеним центром).

Результати досліджень та їх обговорення

Результати дослідів наведені в таблиці, з якої видно, що внутрівenna імунізація експресним методом (I схема) викликає утворення комплементзв'язуючих антитіл, а також преципітуючих антитіл, але останні визначаються у невеликій кількості. Це особливо чітко видно з того, що лише одна з 12 сироваток в реакції преципітації в агарі дала одну слабку дугу преципітації. Реімунізація цих тварин через півтора

місяця триразовим внутрівенным введенням антигену (ІІ схема) збільшила титр комплементзв'язуючих антитіл у середньому в 2,8 раза, а преципітуючих антитіл — у 18 разів. П'ять із 12 сироваток в реакції преципітації в агарі дали від однієї до трьох дуг преципітації.

Титр комплементзв'язуючих та преципітуючих антитіл у сироватці крові кроликів при різних схемах імунізації їх тканинним антигеном

Схема імунізації	Вид сироватки	Титр в РСК	Титр в реакції кільцепреципітації	Кількість дуг в реакції преципітації в агарі
I схема — внутрівenna імунізація три-чотири рази через день (експресний метод) загальною кількістю білка — 13,0 мг/кг	АГЦС	1 : 200	1 : 640	0
	»	1 : 200	1 : 640	0
	»	1 : 100	1 : 320	0
	»	1 : 50	1 : 2.560	0
	»	1 : 50	1 : 5.120	1
	»	1 : 50	1 : 2.560	0
	АМГЦС	1 : 100	1 : 320	0
	»	1 : 200	1 : 320	0
	»	1 : 200	1 : 320	0
	»	1 : 100	1 : 640	0
	»	1 : 50	1 : 640	0
	»	1 : 200	1 : 320	0
II схема — внутрівenna імунізація двома триразовими циклами з інтервалом п'ятої тижнів загальною кількістю білка — 35,0 мг/кг	АГЦС	1 : 640	1 : 5.120	2
	»	1 : 320	1 : 20.480	0
	»	1 : 320	1 : 40.960	0
	»	1 : 160	1 : 20.480	3
	»	1 : 160	1 : 40.960	3
	»	1 : 160	1 : 20.480	0
	АМГЦС	1 : 320	1 : 20.480	0
	»	1 : 640	1 : 20.480	0
	»	1 : 640	1 : 20.480	2
	»	1 : 400	1 : 10.240	0
	»	1 : 160	1 : 20.480	0
	»	1 : 320	1 : 20.480	1
III схема — імунізація під шкіру із стимулятором Фрейнда протягом трьох тижнів загальною кількістю білка — 35,0 мг/кг	АГЦС	1 : 10	1 : 40.960	3
	»	1 : 10	1 : 10.240	1
	»	1 : 20	1 : 10.240	4
	»	1 : 10	1 : 40.960	3
	»	1 : 40	1 : 40.960	2
	»	1 : 10	1 : 40.960	3
	АМГЦС	1 : 10	1 : 10.240	3
	»	1 : 10	1 : 20.480	4
IV схема — комбінована (внутрівенно та під шкіру) імунізація протягом п'яти тижнів загальною кількістю білка — 103 мг/кг	АГЦС	1 : 320	1 : 40.960	6
	»	1 : 320	1 : 20.480	3
	АМГЦС	1 : 400	1 : 40.960	5
	»	1 : 160	1 : 10.240	4
	»	1 : 400	1 : 20.480	2

Імунізація під шкіру (ІІІ схема) викликала утворення комплементзв'язуючих антитіл в дуже низькому титрі — 1 : 10—1 : 20, тоді як преципітуючі антитіла з'явились в значному титрі — 1 : 10.240—1 : 40.960. Усі сироватки дали в реакції преципітації в агарі від трьох до шести дуг преципітації.

Імунізація комбінована під шкіру і внутрівенно протягом п'яти тижнів (ІV схема) викликала появу в значному титрі як преципітуючих, так і комплементзв'язуючих антитіл. Усі сироватки в реакції преципітації в агарі дали від двох до шести дуг преципітації.

Аналіз даних показує, що утворення комплементзв'язуючих та преципітуючих антитіл при різних схемах імунізації тканинним антигеном не відбувається паралельно. При майже повній відсутності комплементзв'язуючих антитіл преципітуючі антитіла можуть бути присутніми у значній кількості і навпаки (див. рисунок).

Привертає увагу той факт, що активному утворенню преципітуючих антитіл сприяє введення антигену під шкіру із стимулятором Фрейнда. Преципітуючі антитіла можуть з'являтися і при внутрівенній імунізації, особливо тривалій, але в меншій кількості. Це особливо добре ілюструється реакцією преципітації в агарі. При одній лише підшкірній імунізації (ІІІ схема) всі сироватки дають дуги преципітації, при внутрівенному тривалому введенні такої ж кількості антигену (ІІ схема) менше половини сироваток дають дуги преципітації, і кількість дуг менша.

Утворення антитіл

Утворенню комплементгену. При одній лише внутрівенній імунізації в значному титрі, із стимулятором Фрейнда антитіл.

Комбіноване — внутрівенно як комплементзв'язуючих, та

Отже, наші дані показують, що антиген, відіграє істотну роль у формуванні преципітуючих антитіл при імунізації.



Співвідно
зуючих а
ват

I — сирова
за ІІ

На підставі літературі під шкіру на самперед в і антигену внутрівенно — селективність імунізації кроликів тканинної лімфоїдної системою, а ком

1. При імунізації крові під шкіру щурів за різними схемами з'являються комплементзв'язуючих та преципітуючих антитіл.

2. Утворенню комплементу антигену.

3. Утворенню преципітуючих антитіл.

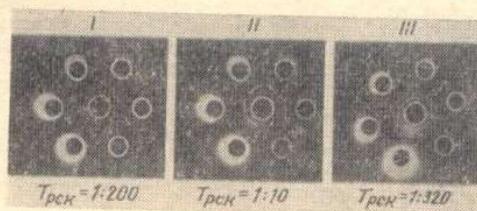
4. Комбіноване введення антигену в значній кількості як

1. Бойд У. — Основы иммунологии. М., 1964.
2. Зильбер Л. А., Абельсон С. А. — Иммунитет. М., 1964.
3. Карпов М. К., Шварц А. А. — Иммунитет. М., 1964.
4. Медуницын Н. В. — Иммунитет. М., 1964.
5. Палладин А. В., Красильников А. А. — Иммунитет. М., 1964.
6. Равич-Щебро М. И. — Иммунитет. М., 1964.
7. Спасокукоцкий Е. А. — Иммунитет. М., 1964.
8. Benedict A. et al.—J. Immunol. 1963, 130, 117.
9. Borel Y., Fauchon J. — Ann. Inst. Pasteur. 1963, 117, 603.
10. Eidinger M., Hugh — Immunology. 1964, 11, 196.
11. Hoogendoorn G., Schuurs H. A. W. — Immunology. 1964, 11, 196.
12. Mäkelä M. — J. Exptl. Med. 1964, 120, 111.
13. Schoenber M. et al. — Immunology. 1964, 11, 196.

Утворенню комплементзв'язуючих антитіл сприяє внутрівеннє введення антигену. При одній лише внутрівенній імунізації можна одержати комплементзв'язуючі антитіла в значному титрі, тоді як введення такої ж кількості антигену під шкіру із стимулятором Фрейнда майже не викликає утворення комплементзв'язуючих антитіл.

Комбіноване — внутрівенно і під шкіру — введення антигену викликає утворення як комплементзв'язуючих, так і преципітуючих антитіл у значному титрі.

Отже, наші дані показують, що метод імунізації, особливо місце введення антигену, відіграє істотну роль у переважному утворенні комплементзв'язуючих чи преципітуючих антитіл при імунізації кроликів тканинним антигеном.



Співвідношення преципітуючих і комплементзв'язуючих антитіл в антигепатоцитотоксичних сироватах при різних методах імунізації.

I — сироватка, одержана за II схемою імунізації; II — за III схемою; III — за IV схемою імунізації.

На підставі літературних даних [3, 4, 6, 9] про те, що при введенні антигену під шкіру насамперед в імуногенез вступають лімфатичні вузли, а при введенні антигену внутрівенно — селезінка, можна припустити, що преципітуючі антитіла при імунізації кроликів тканинним антигеном виробляються переважно екстраселезінковою лімфоїдною системою, а комплементзв'язуючі — селезінкою.

Висновки

- При імунізації кроликів екстрактом печінки та ізольованими мітохондріями печінки щурів за різними схемами не спостерігається паралелізму в утворенні комплементзв'язуючих та преципітуючих антитіл.
- Утворенню комплементзв'язуючих антитіл сприяє внутрівеннє введення антигену.
- Утворенню преципітуючих антитіл сприяє підшкірне введення антигену із стимулятором Фрейнда.
- Комбіноване введення антигену — внутрівенно і під шкіру — викликає утворення в значній кількості як преципітуючих, так і комплементзв'язуючих антитіл.

Література

- Бойд У.—Основы иммунологии, М., 1969.
- Эильбер Л. А., Абелев Г. И.—Вирусология и иммунология рака, М., 1962.
- Карпов М. К., Шварцман Я. С.—ЖМЭИ, 1967, 3, 63.
- Медуницын Н. В.—ЖМЭИ, 1965, 7, 113.
- Палладин А. В., Кирсенко О. В.—Биохимия, 1961, 26, 2, 383.
- Равич-Шебро М. И., Прокопенко Л. Г.—Биосинтез антител и неспецифических гамма-глобулинов в условиях патологии, М., 1966.
- Спасокукоцкий Ю. О.—Физiol. журн. АН УРСР, 1964, 6, 709.
- Benedict A. et al.—J. Exptl. Med., 1962, 115, 195.
- Vogel Y., Fauconnet M., Miescher P.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1964, 117, 603.
- Eidinger M., Hugh F.—J. Exptl. Med., 1967, 126, 1, 15.
- Hogeboom G., Schneider W., Striebich M.—J. Biol. Chem., 1952, 196, 1, 111.
- Mäkelä M.—J. Exptl. Med., 1967, 126, 1, 159.
- Schoenberg M. et al.—J. Exptl. Med., 1965, 121, 4, 103.

Надійшла до редакції
26.XI 1969 р.