

УДК 612.357.3:615.373

І. М. Алексеева, М. В. Ільчевич

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ІМ АНТИГЕПАТОЦИТОТОКСИЧНОЇ СИРОВАТКИ

Працями ряду дослідників і нашими раніше проведеними дослідженнями показано, що введення в організм тварин великих доз (десяти долі *мл* на 100 *г* ваги тіла) антигепатоцитотоксичної сироватки викликає пригнічення ряду функцій печінки: білоксинтезуючої [1, 6], екскреторної [2, 8] жовчовидільної [4], а також порушує морфологічну структуру печінки аж до осередкового некрозу паренхіми [10, 7, 12]. Порушення цілісності клітин печінки може викликати появу в крові продуктів розпаду та аутоантитіл до них. Чи являються ці речовини біологічно активними, спричиняючи вплив на функцію клітин, чи виступають лише в ролі «свідків» патологічного процесу — питання важливе для різних аспектів гепатології, в тому числі для з'ясування механізму дії гетерогенних гепатоцитотоксинів.

Для вирішення цього питання важливо обрати модель експерименту, яка дозволяє виявити біологічну активність незначної кількості речовин. Наші раніше проведені дослідження показали, що застосування гетерогенної, кролячої антигепатоцитотоксичної сироватки в кількості $2,5 \cdot 10^{-5}$ — $2,5 \cdot 10^{-6}$ *мл* на 100 *г* ваги тіла щура на фоні ураження печінки чотирехлористим вуглецем певною мірою запобігає порушенню функції печінки за даними бромсульфалеїнової проби [2], активності трансаміназ у печінці [3], жовчовидільної функції печінки [4]. Введення таких же доз АГЦС інтактним тваринам майже не впливає на функціональний стан печінки. Ми вирішили перевірити, чи спричинятиме захисну дію на жовчовидільну функцію печінки щурів при ураженні їх печінки чотирехлористим вуглецем сироватка крові щурів, одержана в різні строки після п'ятиразового введення великих доз антигепатоцитотоксичної сироватки. Беручи до уваги, що гадані біологічно активні речовини повинні міститись у сироватці крові щурів у кількості, значно меншій, ніж в імунній антигепатоцитотоксичній сироватці, ми застосували великі дози — 2,5 *мл* на 100 *г* ваги тіла щурів.

Методика досліджень

Щурам першої групи вагою 200—300 *г* п'ять днів підряд вводили внутрішньо великі дози (0,3 *мл*/100 *г*) антигепатоцитотоксичної сироватки АГЦС, одержаної імунізацією кроликів водно-сольовим екстрактом печінки щурів. Титр сироватки в РЗК був 1 : 400—1 : 640. Частину щурів обезкровлювали на третю добу після останнього введення АГЦС, частину — на десяту. У всіх щурів визначали наявність у крові ізоантитіл до тканини печінки, застосовуючи реакцію споживання комплекменту за Худомелом в модифікації Федорича [13].

Щурам другої групи вводили за такою ж схемою такі самі дози нормальної кролячої сироватки (НКС). Щурів обезкровлювали на третю добу.

Піддослідним щурам вводили триразово через три дні на четвертий чотирьохлористий вуглець під шкіру, розведений соняшниковою олією 1:1 в дозі 0,5 мл/100 г. Сироватки щурів, одержані на третю і десятю добу після застосування АГЦС, сироватку щурів, одержану на третю добу після введення НКС, а також сироватку інтактних тварин вводили піддослідним щурам наступного дня після кожного введення CCl_4 — за схемою, застосованою нами в попередніх дослідах по вивченню дії малих доз гетерогенної АГЦС [2, 3, 4].

У інтактних щурів, які одержували лише CCl_4 , та щурів, які одержували CCl_4 та сироватку крові щурів, вивчали жовчовидільну функцію печінки в гострому експерименті. При збиранні жовчі на протязі 6 год ми вивчали кількість жовчі за кожну годину, концентрацію жовчних кислот та розраховували вміст жовчних кислот у годинних порціях жовчі. Концентрацію жовчних кислот визначали за методом, оснований на реакції Петенкофера в модифікації Кульберга і Маляревської [9].

Досліди проведені на 79 щурах із застосуванням сироватки, одержаної від 45 щурів.

Результати досліджень та їх обговорення

Дані про наявність ізоантител у сироватці крові щурів після п'ятиразового введення їм кролячої АГЦС наведені в табл. 1. У щурів на третю добу після введення великих доз кролячої АГЦС ізоантитела до тканини печінки виявлено в чотирьох випадках із 13, у щурів на десятю добу після останнього введення АГЦС — в трьох випадках із десяти, у інтактних щурів в жодному з 12 випадків ізоантител не виявлено.

Таблиця 1

Ізоантитела в сироватці крові щурів після п'ятиразового введення антигепатотоксичної сироватки

Контроль			3 доба після введення АГЦС			10 доба після введення АГЦС		
Кількість дослідів	Кількість випадків виявлення антитіл	Титр антитіл по CH_{50}	Кількість дослідів	Кількість випадків виявлення антитіл	Титр антитіл по CH_{50}	Кількість дослідів	Кількість випадків виявлення антитіл	Титр антитіл по CH_{50}
12	0	0	13	4	1,6	10	4	1,7
					4,2			5,6
					13,3			6,8
					4,2			5,6

В табл. 2 наведені дані про вплив сироватки крові щурів, одержаної на третю та десятю добу після п'ятиразового введення великих доз кролячої АГЦС, сироватки крові щурів, одержаної на третю добу після введення НКС, а також сироватки крові інтактних щурів на жовчовидільну функцію печінки щурів, отруєних CCl_4 . Триразове введення одного лише CCl_4 викликає різке зниження концентрації та вмісту жовчних кислот у жовчі без зниження рівня жовчовиділення. Введення сироватки крові щурів, обезкровлених на третю добу після п'ятиразового введення їм кролячої АГЦС на фоні застосування CCl_4 , викликає підвищення рівня жовчовиділення, менше зниження концентрації жовчних кислот та їх кількості в порівнянні з дією одного CCl_4 . Отже, сироватка крові щурів, одержана на третю добу після п'ятиразового введення АГЦС, спричинила виражену стимулюючу і захисну дію на жовчовидільну функцію печінки, порушену введенням CCl_4 .

Сироватка крові щурів, одержана на десятю добу після останнього введення АГЦС, спричинила менш виражений вплив (статистич-

Рівень жовчовиділення, концентрація та вміст жовчних кислот в жовчі у щурів на 3 добу після останнього введення сироватки крові щурів на фоні ураження печінки CCl_4 (середні дані за 6 год збирання жовчі)

Таблиця 2

Статистичні показники	Контроль				CCl_4				CCl_4 + сироватка щурів на 3 добу після АГЦС				CCl_4 + сироватка щурів на 10 добу після АГЦС				CCl_4 + сироватка щурів на 3 добу після НКС				CCl_4 + сироватка інтактних щурів			
	жовчні кислоти		жовчні кислоти		жовчні кислоти		жовчні кислоти		жовчні кислоти		жовчні кислоти		жовчні кислоти		жовчні кислоти		жовчні кислоти		жовчні кислоти		жовчні кислоти		жовчні кислоти	
	м.л жовчі		м.л жовчі		м.л жовчі		м.л жовчі		м.л жовчі		м.л жовчі		м.л жовчі		м.л жовчі		м.л жовчі		м.л жовчі		м.л жовчі		м.л жовчі	
	мг %	мг	мг %	мг	мг %	мг	мг %	мг	мг %	мг	мг %	мг	мг %	мг	мг %	мг	мг %	мг	мг %	мг	мг %	мг	мг %	мг
n	10	10	10	10	21	21	21	21	10	10	10	10	11	11	11	11	9	9	9	9	14	11	11	11
M	0,185	521	0,949	0,189	0,585	302	0,189	0,585	0,263	1,039	0,213	350	0,730	294	0,173	0,522	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,419
±m	0,014	45	0,104	0,013	0,077	32	0,013	0,077	0,024	0,143	0,018	43	0,084	49	0,019	0,155	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,069
P_K									<0,02	>0,1	>0,2	<0,02	>0,2	<0,01	>0,5	>0,5	<0,01	<0,05	>0,2	>0,2	>0,2	<0,001	<0,001	<0,001
P_{CCl_4}									<0,02	>0,05	>0,2	>0,2	>0,2	>0,2	>0,2	>0,2	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5	>0,05	>0,2	>0,2	>0,1

но недостовірний) на жовчовидільну функцію печінки, порушену внаслідок застосування CCl_4 .

Сироватка крові щурів, одержана на третю добу після введення НКС, не спричиняє впливу на жовчовидільну функцію печінки, порушену введенням CCl_4 .

Сироватка крові інтактних щурів також не спричинила жодного стимулюючого, захисного впливу на жовчовидільну функцію печінки щурів, порушену від введення CCl_4 . Спостерігається навіть тенденція до деякого зниження рівня жовчовиділення, концентрації та вмісту жовчних кислот у порівнянні з дією одного CCl_4 .

Якими ж речовинами обумовлена ця біологічна активність сироватки крові щурів, які одержували великі дози гетерогенної АГЦС? Наші дані не виявили паралелізму між присутністю антитіл до тканини печінки в сироватці крові щурів та її біологічною активністю.

Антитіла до тканини печінки майже в рівній кількості (частота виявлення та їх титр) виявляються як на третю, так і на десятю добу, а біологічна активність сироватки була значно більшою на третю добу, ніж на десятю. Тому говорити про роль сироватки антитіл у біологічній дії сироватки не має достатньої підстави. Можна гадати, що біологічну дію спричиняють продукти розпаду клітин печінки, яких на третю добу в крові більше, ніж на десятю. Богомолец [5] пояснював стимулюючу дію малих доз цитотоксичних сироваток саме дією продуктів розпаду клітин, які утворюються внаслідок їх незначного пошкодження. Є дані про те, що сироватка частково гепатектомованих тварин має здатність індукувати ріст печінкової тканини *in vivo* та *in vitro* [11]. Автори цих дослідів говорять про появу в крові «гуморального фактора», який впливає на ріст печінки, гадаючи, що це можуть бути продукти розпаду клітин, оскільки гомогенати, виготовлені з регенеруючої або некротизо-

ваної печінки, також спричиняють стимулюючий вплив на мітотичний поділ печінкових клітин.

Наведені нами дані дають експериментальний доказ біологічної ролі речовин, які з'являються в крові після застосування антигепатоцитотоксичної сироватки. Питання про природу цих речовин вимагає дальших досліджень.

Одержані дані про стимулюючу дію сироватки крові тварин після введення їм великих доз гетерогенної антигепатоцитотоксичної сироватки можуть з'ясувати в якійсь мірі ряд явищ, пов'язаних з ефектом дії АГЦС: і спостережуваний іноді перехід фази пригнічення функції в фазу стимуляції при застосуванні великих доз [2], і більшу вираженість у деяких випадках стимулюючої дії малих доз при наявності попередньої фази пригнічення [3].

Застосована нами модель експерименту дала можливість виявити біологічну активність речовин, які містяться в крові в незначній кількості. Вона може бути застосована для виявлення дії біологічно активних речовин, в тому числі аутоантитіл, які з'являються в крові при різних патологічних станах печінки.

Висновки

1. Застосована модель експерименту — введення сироватки крові щурів, обезкровлених після п'ятиразового застосування їм великих доз антигепатоцитотоксичної сироватки, щурам на фоні ураження печінки CCl_4 дозволяє виявити біологічну активність речовин, які містяться в цій сироватці в незначній кількості.

2. Сироватка крові щурів, одержана на третю добу після п'ятиразового введення великих доз гетерогенної антигепатоцитотоксичної сироватки, спричиняє виражений стимулюючий і захисний вплив на жовчовидільну функцію печінки щурів, порушену введенням чотирьохлористого вуглецю.

Література

1. Алексеева І. М. Зміни білкового складу та активності трансаміназ сироватки крові і печінки щурів під впливом великих доз антигепатоцитотоксичної сироватки та АЦС.— *Фізіол. журн. АН УРСР*, 1968, 6, 774—781.
2. Алексеева І. Н. Влияние антигепатоцитотоксической сыворотки на экскреторную функцию печени.— *Пат. физиол. и эксп. терапия*, 1973, 2, 72—74.
3. Алексеева І. М. Зміни вмісту білка і активності трансаміназ у печінці і сироватці крові щурів при введенні малих доз антигепатоцитотоксичної сироватки на фоні гострого ураження печінки чотирьохлористим вуглецем.— *Укр. біохім. журн.*, 1973, 3, 254—257.
4. Алексеева І. М. Жовчовидільна функція печінки в умовах застосування великих і малих доз антигепатоцитотоксичної сироватки.— *Фізіол. журн. АН УРСР*, 1974, 5, 602—607.
5. Богомолец А. А. Специфическая цитотоксическая стимуляция и блокада клеточных функций.— *Избр. труды*, Киев, изд-во АН УССР, 1958, 138—142.
6. Бикорез А. І., Кулик Г. І. Хронічне ураження печінки гепатоцитотоксичними сироватками.— *Фізіол. журн. АН УРСР*, 1964, 2, 271—274.
7. Бикорез А. І. Морфологические изменения в печени крыс, вызванные многократным введением гепатоцитотоксических сывороток, полученных от животных различных видов.— В кн.: *Цитотоксины в совр. медицине*, Киев, «Здоров'я», 1966, 3, 61—68.
8. Евсеева А. И. О механизме действия на печень и опухоль Герена крыс антигепатоцитотоксической сыворотки и сыворотки против трансплантата этой опухоли.— *Автореф. дис.*, Киев, 1970.
9. Кульберг Л. М., М а л я р е в с к а я М. Е. Микрофотометрический метод определения желчных кислот в биологических жидкостях.— *Врач. дело*, 1951, 9, 810—812.

10. Мажбич И. Б. Материалы к вопросу о влиянии гепатоцитотоксинов на морфологическую структуру печени и некоторых других органов.— В сб.: Труды Омского мед. ин-та им. Калинина, 1949, 13, 2, 101—125.
11. Сидорова В. Ф., Рябинина З. Н., Лейкина Е. Н. Регенерация печени у млекопитающих. Л., «Медицина», 1966.
12. Спасокукоцкий Ю. А., Алексеева И. Н., Зеленская Т. М., Галенко Т. И.— Серологическая характеристика и биологическое действие антипаренхиматозной и антимитохондриальной гепатоцитотоксических сывороток.— В кн.: Цитотоксины в совр. медицине, Киев, «Здоров'я», 1972, 6, 39—44.
13. Федорич В. Н. Реакция потребления комплемента по 50% гемолизу как тест для выявления противопеченочных комплементсвязывающих антител.— В кн.: Инфекционный гепатит, Киев, 1970, 4, 159—160.

Відділ імунології та цитотоксичних сироваток
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця
АН УРСР, Київ

Надійшла до редакції
2.III 1976 р.

I. N. ALEKSEEVA, N. V. IL'CHEVICH

STUDIES IN BIOLOGICAL ACTIVITY OF RAT BLOOD SERUM AFTER ADMINISTERING LARGE DOSES OF ANTIHEPATOCYTOTOXIC SERUM TO THEM

Summary

Blood serum of rats which were administered large doses of heterogenic antihepatocytotoxic serum (AHCS) is shown to acquire the biological activity. Serum of the rats exsanguinated on the 3d and 10th day after a 5-fold administration of AHCS which was introduced to rats against a background of their liver affection with CCl_4 has a certain stimulating and protective action on the liver bile secretory function. Blood serum of the intact rats and those given large doses of NRS has no stimulating effect on the rat liver bile secretory function disturbed by administration of CCl_4 .

In the blood serum of rats which were given large doses of AHCS antibodies to the liver tissue are detected. No parallelism is observed between the biological effect of rat blood serum and the presence of antibodies in it.