

УДК 615.365—631

Л. І. Барченко, А. І. Воробей

ПОРІВНЯЛЬНА СЕРОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОРГАННОЇ ТА АНТИМІКРОСОМНОЇ АНТИТЕСТИКУЛЯРНИХ ЦИТОТОКСИЧНИХ СИРОВАТОК

Численні літературні дані і наші власні дослідження [1, 2, 6, 7, 9, 10, 14, 19, 22] свідчать про те, що цитотоксичним сироваткам притаманна переважна, але не абсолютна органна специфічність. Зокрема, в серологічних реакціях вони взаємодіють не тільки з антигенами того органа, по відношенню до якого одержані, але і з антигенами інших органів організму того ж виду, хоч і в більш низькому титрі. Спроби багатьох дослідників одержати за допомогою різних методів цитотоксичні сироватки з абсолютною органною специфічністю практично не мали успіху.

Перспективи дальшої розробки цитотоксичних сироваток з метою їх практичного використання потребують як підвищення органної специфічності цитотоксичних сироваток, так і одержання сироваток більш вузької цілеспрямованої дії. Одним з шляхів такого вдосконалення є одержання сироваток по відношенню до окремих внутріклітинних структур, вилучених з клітин з допомогою методу фракційного центрифугування і використаних як антигени для одержання цитотоксичних сироваток.

Одержувати та вивчати такі сироватки почали недавно і досліджень, присвячених цьому питанню, відносно небагато. Проте аналіз наявних літературних даних уже зараз дозволяє з упевненістю говорити про те, що імунні сироватки, одержані до різних фракцій однієї і тієї ж клітини, відрізняються за своєю дією. Використовуючи як антиген окремі внутріклітинні структури (мікросоми, ядра, мітохондрії), можна одержати цитотоксичні сироватки з різними біологічними властивостями, які відрізняються за своєю дією на окремі процеси життєздатності клітини [3, 4, 8]. Показано, що сироватки, вироблені проти окремих клітинних органодів, проявляли більш вибірковий вплив, ніж сироватка, вироблена по відношенню до цільної тканини [5, 11].

Менш однозначні результати були одержані при вивченні органної специфічності цитотоксичних сироваток, одержаних по відношенню до внутріклітинних структур. Одні автори на основі серологічних досліджень прийшли до висновку про більш високу органну специфічність антимітохондріальної гепатоцитотоксичної сироватки [12, 15], інші не поділяють цю точку зору, оскільки в їхніх дослідках ця сироватка виявляла більшу спорідненість до антигенів негомологічних органів [13].

Недостатнє вивчення порушених питань та їх значення для дальшої розробки цитотоксичних сироваток більш цілеспрямованої дії спонукали нас розпочати дослідження по вивченню органної специфічності імунної сироватки, одержаної по відношенню до мікросомної фракції клітин сім'яника.

В перехресних серологічних реакціях вивчали ступінь спорідненості цієї сироватки до антигенів гомологічних і негомологічних органів і одержані дані порівнювали з аналогічними показниками для цитотоксичної сироватки, одержаної по відношенню до цільної тканини сім'яника.

Крім того, була вивчена спорідненість антимікросомної антитестикулярної цитотоксичної сироватки до ядерної та мітохондріальної фракцій клітин сім'яника.

Методика досліджень

Антитестикулярну цитотоксичну сироватку до цільної тканини сім'яника (АТЦС) одержували імунізацією кроликів водно-сольовим екстрактом тканини сім'яника щурів.

Для одержання антимікросомної антитестикулярної цитотоксичної сироватки — АТЦС (м) — кроликів імунізували виділеною шляхом фракційного центрифугування [20] мікросомною фракцією клітин сім'яника щурів. Чистоту виділеної мікросомної фракції контролювали на електронно-мікроскопічних препаратах (рис. 1).

Всього було одержано та досліджено 9 серій АТЦС (м) з титрами 1:160, 1:120, 1:400, 1:800 і 5 серій АТЦС з титрами 1:200, 1:320 і 1:800.

Титр антитіл в сироватках тварин після імунізації та при постановці перехресних серологічних реакцій визначали за тепловим варіантом реакції зв'язування комплекменту.

Специфічність антимікросомної сироватки до антигенів інших внутріклітинних органел вивчали шляхом порів-

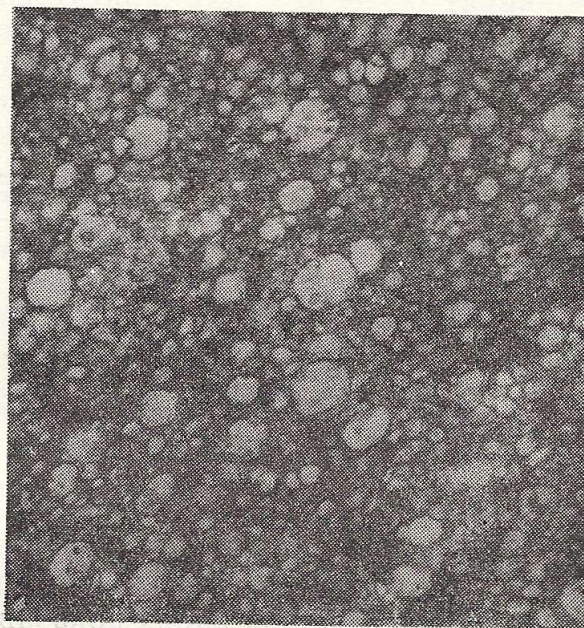


Рис. 1. Електроннограма осаду мікросом. Збільш. 4500.

няння титру сироватки з мікросомною фракцією з титрами тієї ж сироватки з мітохондріальною та ядерною фракціями клітин сім'яника щура.

Ядерну фракцію клітин виділяли фракційним центрифугуванням за методом Хагбума і Шнейдера [18] в модифікації Даунаса [16] на рефрижераторній центрифугі К-24. Мітохондріальну фракцію клітин сім'яника виділяли фракційним центрифугуванням за методом Шнейдера і Хагбума [23] в модифікації Сайкойс та ін. [21].

Результати досліджень

В перехресних серологічних реакціях з різними антигенами були вивчені імунологічні властивості двох цитотоксичних сироваток: антитестикулярної цитотоксичної сироватки, одержаної до цільної тканини сім'яника (АТЦС) та антимікросомної антитестикулярної цитотоксичної сироватки, одержаної по відношенню до мікросомної фракції клітин сім'яника АТЦС(м).

В першій серії досліджень було проведено вивчення ступеня спорідненості АТЦС(м) до екстракту цільної тканини сім'яника в порівнянні з мікросомною фракцією клітин сім'яника. З цією метою в реакції зв'язування комплекменту враховували титр сироватки до обох видів антигенів. Паралельно в аналогічних дослідах була вивчена АТЦС.

Одночасно було проведено порівняльне дослідження ступеня спорідненості обох сироваток до негомологічних для них антигенів щура: нирки, печінки, серця, легенів та селезінки. Результати цих досліджень представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Серологічна характеристика антитестикулярної цитотоксичної сироватки, одержаної до цільної тканини та мікросомної фракції клітин сім'яника щура, в перехресних реакціях зв'язування комплексу з гомологічними та негомологічними антигенами

№ п. п.	Мікросомна фракція клітин сім'яника	Антимікросомна антитестикулярна цитотоксична сироватка					
		Сім'яник (цільна тканина)	Нирка	Печінка	Серце	Легені	Селезінка
1	1:400	1:400	1:200	1:50	1:50	1:100	—
2	1:200	1:200	1:100	1:20	1:20	1:50	—
3	1:320	1:320	1:200	1:100	1:100	—	—
4	1:100	1:100	1:50	1:20	1:10	1:50	1:50
5	1:160	1:160	1:50	1:10	1:10	1:50	1:20
6	1:400	1:400	1:200	1:100	1:50	1:100	1:50
7	1:640	1:640	1:320	1:160	1:80	1:100	1:80
8	1:800	1:800	1:400	1:200	1:50	1:100	1:80
9	1:400	1:400	1:200	1:100	1:20	1:100	1:50

№ п. п.	Сім'яник (цільна тканина)	Антитестикулярна цитотоксична сироватка					
		Мікросомна фракція клітин сім'яника	Нирка	Печінка	Серце	Легені	Селезінка
1	1:800	1:800	1:400	1:200	1:200	1:200	1:200
2	1:200	—	1:100	1:50	—	—	1:50
3	1:200	1:200	1:100	1:50	1:50	1:50	1:20
4	1:320	1:320	1:160	1:80	1:80	1:160	1:80
5	1:800	1:800	1:400	1:200	1:100	1:200	1:100

Аналіз одержаних даних показав, що титр АТЦС(м) у всіх дослідках без винятку був абсолютно однаковий як з мікросомною фракцією клітин сім'яника, по відношенню до якої одержана сироватка, так і з екстрактом цільної тканини сім'яника. Титри АТЦС у всіх дослідках були

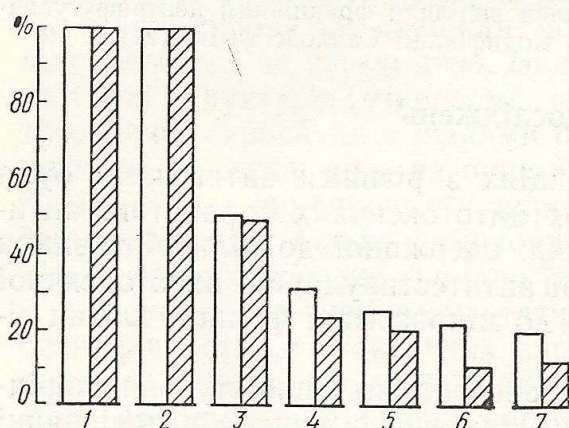


Рис. 2. Процентне співвідношення титрів антитестикулярної та антимікросомної цитотоксичних сироваток з гомологічними та негомологічними антигенами.

1 — цільна тканина сім'яника; 2 — мікросомна фракція сім'яника; 3 — нирка; 4 — легені; 5 — печінка; 6 — серце; 7 — селезінка. Білі стовпці — АТЦС, заштриховані стовпці — АТЦС(м).

також однаковими як з екстрактом цільної тканини сім'яника, так і з мікросомною фракцією клітин сім'яника. Аналіз спорідненості обох сироваток до антигенів інших органів щура показав, що титри АТЦС(м) з антигенами інших органів були, як правило, нижчі, ніж титри АТЦС. Особливо наочно це видно за даними процентного співвідношення титрів, які представлені на рис. 2. Серед досліджених негомологічних органів

найбільшу спорідненість обидві сироватки виявили до антигену нирки. Титри сироваток з екстрактом цього органа становили в середньому 50% від основного титру для АТЦС і 49,3% для АТЦС(м). На другому місці після нирки за ступенем спорідненості стоїть тканина легень, титри з якою становили в середньому 31,3% для АТЦС і 23,2% для АТЦС(м). На основі аналізу середніх показників можна відзначити, що АТЦС(м) виявляє меншу спорідненість до антигенів всіх досліджених негомолігічних органів, ніж АТЦС. Це дозволяло прийти до висновку про більш органну специфічність АТЦС(м) в порівнянні з АТЦС.

При постановці перехресних реакцій АТЦС та АТЦС(м) з екстрактом цільної тканини сім'яника і з мітохондріальною фракцією клітин сім'яника були одержані дещо несподівані результати. Всі досліджені серії АТЦС, за винятком однієї, з мітохондріальною фракцією кліток сім'яника реагували в більш високих титрах, ніж з цільною тканиною сім'яника, яка була антигеном для одержання даної сироватки. Як видно з наведених у табл. 2 даних, в чотирьох дослідах з п'яти титр АТЦС з мітохондріальною фракцією становив 160% від основного титру з гомологічним антигеном, прийнятого за 100%, і тільки в одному досліді титри з обома антигенами були однаковими.

Таблиця 2

Порівняльна серологічна характеристика спорідненості АТЦС та АТЦС(м) до мітохондріальної та ядерної фракцій клітин сім'яника щура

№ п. п.	Антигени		
	Сім'яник (цільна тканина)	Мітохондріальна фракція клітин сім'яника	Ядерна фракція клітин сім'яника
АТЦС			
1	1:200	1:320	1:10
2	1:400	1:640	1:40
3	1:320	1:320	—
4	1:400	1:640	1:20
5	1:200	—	—
6	1:640	1:320	1:100
7	1:400	—	1:20
АТЦС(м)			
1	1:160	1:200	нема титру
2	1:100	1:160	—
3	1:200	1:160	нема титру
4	1:400	1:200	1:20
5	1:640	1:400	1:40
6	1:800	1:400	1:50
7	1:200	1:200	—

Можна припустити, що більш високі титри АТЦС з мітохондріальною фракцією пояснюються більшою серологічною активністю мітохондрій в порівнянні з іншими органелами клітини, на що вказують деякі автори.

В аналогічних дослідах титри різних серій АТЦС(м) з мітохондріальною фракцією були набагато нижчі і становили в чотирьох дослідах із семи 50—62,5 і 80% від основного титру. В одному досліді титри з обома антигенами були однаковими і тільки в двох дослідах титри з мітохондріальною фракцією були вищі і становили 125 і 160% від основного титру. В середньому титр АТЦС(м) з мітохондріальною фракцією становив 73,9%, а середній титр АТЦС становив 148%.

Отже, АТЦС(м) в серологічних реакціях виявляє, хоч і меншу ніж АТЦС, але досить високу спорідненість до мітохондріальної фракції клітин. Водночас застосована для імунізації тварин мікросомна фракція не має мітохондрій. Пояснити це можна, очевидно, тим, що, як вказують деякі автори [17], мембрани мікросом і мітохондрій мають загальні антигени.

Порівняльне вивчення в перехресних реакціях спорідненості АТЦС та АТЦС(м) до ядерної фракції клітин сім'яника показало, що антимікросомна сироватка виявляє в порівнянні з АТЦС меншу спорідненість до ядер клітин (табл. 2). АТЦС(м) з більш низьким основним титром 1:200 і 1:160 зовсім не дали титру з ядерною фракцією, тоді як АТЦС з таким же титром реагувала в розведенні 1:10. АТЦС(м) з більш високими основними титрами 1:400, 1:640 і 1:800 реагували з ядерною фракцією в низьких титрах 1:20, 1:40 і 1:50, що становило в середньому 5,8% від основного титру. Для АТЦС цей показник становив 8,8%. Отже антимікросомна сироватка реагувала з ядрами в більш низьких титрах, ніж сироватка до цільної тканини.

Аналогічні дані були одержані іншими дослідниками з антимітохондріальною сироваткою [15], яка реагувала з мітохондріальною фракцією в розведенні 1:1024, а з ядерною фракцією в розведенні 1:64.

Висновки

1. В реакції зв'язування комплементу було проведено порівняння титрів антитестикулярної цитотоксичної сироватки, одержаної до мікросомної фракції клітин сім'яника щура — АТЦС(м) та антитестикулярної цитотоксичної сироватки, одержаної до цільної тканини сім'яника — АТЦС з двома видами антигенів: екстрактом цільної тканини сім'яника та мікросомною фракцією клітин сім'яника. Титр кожної окремо взятої сироватки з обома видами антигенів був цілком ідентичним.

2. Порівняльне вивчення органної специфічності АТЦС та АТЦС(м) в перехресних реакціях зв'язування комплементу з гомологічними та негомологічними антигенами показало, що АТЦС(м) в порівнянні з АТЦС є більш органоспецифічною.

3. Всі досліджені серії АТЦС в основному реагували з мітохондріальною фракцією клітин сім'яника в більш високих титрах, ніж з цільною тканиною сім'яника. Титри різних серій АТЦС(м) з мітохондріальною фракцією клітин сім'яника були нижчі за основний титр.

4. Порівняльне вивчення в перехресних реакціях титрів АТЦС та АТЦС(м) з ядерною фракцією клітин сім'яника показало, що антимікросомна сироватка виявляє меншу в порівнянні з АТЦС спорідненість до ядер клітин.

Література

1. Барченко Л. І. Изучение специфичности цитотоксических сывороток методом культур тканей.— Пат. физиол. и exper. терапия, 1965, 4, 38—42.
2. Голубович З. С., Косенко С. І. До питання про імунологічну активність і специфічність АМСЦ.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1975, 4, 538—539.
3. Зайчик А. Ш. Об активности цитотоксинов, полученных иммунизацией клеточными фракциями надпочечников.— Пат. физиол. и exper. терап., 1969, 13, 6, 52—55.
4. Зайчик А. Ш. Цитотокс. к отдельным клет. фракциям как стимуляторы секреции в условиях гипопизект.— В кн.: Цитотокс. в соврем. мед., Киев, 1972, 6, 71—74.
5. Зайчик А. Ш., Вереникина Б. І. К вопросу о структурных изменениях фолликулярных клеток щитовидной железы при введении антисывороток, специфических к отдельным клеточным фракциям.— В кн.: Цитотоксины в соврем. мед., Киев, 1972, 6, 63—66.

6. Зеленская Т. М. Влияние антиовариальной и антителикулярной цитотоксической сывороток на функциональное состояние и морфологические структуры яичников и семенников крыс в возрастном разрезе. Автореф. дисс., Киев, 1967.
7. Капичников М. М. К механизму антибластического действия иммунной противораковой сыворотки.— В сб.: Вопросы иммунологии нормальной и злокачественной ткани, М., 1956, 41.
8. Колобаев В. И., Павлов А. Д. Изучение действия антимитохондриальной и антиядерной гепатоцитотоксических сывороток на эритропоэз и биосинтетические процессы в печени и почках.— В кн.: Цитотоксины в соврем. мед., Киев, 1976, 7.
9. Мажбич И. Б. Материалы к серологической характеристике гепатотоксинов.— В кн.: Труды Омского мед. ин-та, Омск, 1949, 11, 151—169.
10. Ніщименко О. В. До питання про імунологічну активність і специфічність імунних цитотоксичних сироваток в реакціях зв'язування комплементу.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1969, 4, 546—549.
11. Петрунь Н. М., Литвинчук Н. К., Шульгинова З. И. Сравнительное изучение влияния антикортиконадпочечниковой антимитохондриальной и антимикросомальной цитотоксических сывороток в большой дозе на биосинтез кортикостероидов.— Пат. физиол. и exper. therap., 1970, 3, 28—31.
12. Родионов Г. А., Король С. А. Гистоморфология печени здоровых белых крыс разного возраста при применении гепатоцитотоксической митохондриевой сыворотки.— В кн.: Механизмы старения, Киев, 1963, 105—110.
13. Спасокукоцкий Ю. А., Алексеева И. Н., Зеленская Т. М., Галенко Т. И. Серологическая характеристика и биологическое действие антипаренхиматозной и антимитохондриальной гепатотоксических сывороток.— В кн.: Цитотоксины в соврем. мед., Киев, 1972, 6, 39—44.
14. Уманский Ю. А., Федоровская М. И., Ветрова Е. П. К вопросу о выявлении специфичности цитотоксических сывороток.— В кн.: Цитотоксины в соврем. мед., Киев, 1969, 5, 121—125.
15. Davis I. S., Bollet A. J. Effects of Antibodies on Mitochondria.— J. Clin. Invest., 1962, 41, 12, 2142—2149.
16. Douncse A.—Выделение ядер и ядрышек клеток и их состав.— В кн.: Нуклеиновые кислоты, 1957, ИЛ, 50—101.
17. Edgington T. S. Fixation of Specific anti-liver antibodies in the rat.— Feder. Proc., 1966, 25, 2, 437.
18. Hogeboom G. H., Schneider W. C.—Цит. за [16].
19. Krüpe M. Für Frage der serologischen Reaktionsfähigkeit. von Hirn und Hoden.— Zeitschr. für Immunitätsforsch., 1935, 85, 487.
20. Menard R. H., Purvis J. Z. Studies of Cytochrome P—C%O in testis microsomes.— Arch. Biochem. a. Biophys., 1973, 154, 1, 8—18.
21. Psychoyos S., Tallan H. H., Greenberd P. Aldosterone synthesis by adrenal mitochondria.— J. Biol. Chem., 1966, 241, 12, 2949—2955.
22. Seifert H. Spezifitäts Untersuchungen an Anti-Organseren und Bogomoletz-Serum.— Z. Immunitätsforsch. und exptl. Therapie, 1958, 116, 5—6, 413—428.
23. Schneider W. C., Hogeboom G. H. Intracellular distrib. of enzymes. Further studies on the distrib. of cytochrome.— J. Biol. Chem., 1950, 183, 1, 123—127.

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

Надійшла до редакції
2.III 1976 р.

L. L. BARCHENKO, A. I. VOROBEL

COMPARATIVE SEROLOGICAL CHARACTERISTIC OF ANTITESTICULAR AND ANTIMICROSOMAL ANTITESTICULAR CYTOTOXIC SERA

Summary

In the complement fixation reaction the titres of the antitesticular cytotoxic serum obtained to the microsomal fraction of the rat testicle cells (ATCS_(m)) and antitesticular cytotoxic serum obtained to the intact tissue of the testicle (ATCS) were compared with the homologous and nonhomologous antigens (kidney, liver, lungs, heart, spleen). It was shown that ATCS_(m) as compared to ATCS is more organospecific. If the studied series of ATCS with the mitochondrial fraction of the testicle cells reacted on higher titres than with the intact tissue of the testicle, then ATCS_(m) with the mitochondrial fraction of the testicle cells were lower than the main titre. A study of ATCS and ATCS_(m) titres with the nuclear fraction of the testicle cells showed that the antimicrosomal serum manifests a less affinity to the cell nuclei as compared to ATCS.