

УДК 615.373: (048.8)

Н. В. Ильевич, Ю. А. Спасокукоцкий, И. Н. Алексеева,
Л. И. Барченко, Т. М. Зеленская, О. В. Нищименко,
Т. М. Брызгина, Т. И. Галенко, Р. И. Янчий

РАЗВИТИЕ ИДЕЙ А. А. БОГОМОЛЬЦА В ОБЛАСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ В ПРАКТИКЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК

А. А. Богомолец считал, что одной из важных задач медицинской науки является разработка и использование средств активного воздействия на регуляторные механизмы. По его мнению, такими средствами могут быть иммунные цитотоксические сыворотки, преимущество которых состоит в том, что механизм их действия в значительной степени адекватен физиологическим регуляторным механизмам деятельности клеток и органов. Созданная А. А. Богомольцем антиретиккулярная цитотоксическая сыворотка, широко известная сейчас как сыворотка Богомольца, явилась результатом развития и практического воплощения идеи И. И. Мечникова о возможности использования стимулирующих доз цитотоксических сывороток для повышения функциональной активности органов и систем организма. Фундаментальные работы А. А. Богомольца и его учеников явились серьезным стимулом для разработки и изучения механизма действия иммунных сывороток, специфичных к другим органам и тканям.

В отделе иммунологии и цитотоксических сывороток Института физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР на протяжении многих лет проводится широкое изучение механизмов и эффекта действия ряда органических цитосывороток. Методологическим принципом при проведении этих исследований явилось последовательное изучение с помощью адекватных методик функционального состояния соответствующих систем для выявления механизмов нарушения функций организма и их восстановления путем направленного применения специфических цитосывороток. Наряду с этим проводимые в отделе исследования явились важной вехой в разработке одного из кардинальных вопросов современной иммунологии — роли антител в осуществлении физиологических и патологических реакций организма. Основанием для этого служит отсутствие существенных отличий между антителами, образующимися в организме и гетерогенными противоорганными, вводимыми извне. Исследованиями последних лет доказано, что появляющиеся при определенных условиях в результате аутоиммунных расстройств цитотоксические антитела играют существенную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний. Вариабельность антигенных детерминант на поверхности клетки, обусловленная их распределением и количеством, количество и характер специфических антител в омывающей клетки тканевой жидкости обуславливает повреждение органа или его стимуляцию. Характер изменений клеточных процессов под влиянием комплекса антиген — антитело имеет общие механизмы независимо от природы клетки-мишени и класса антител [31].

Показано [5, 6, 7], что под влиянием больших доз цитосывороток, специфичных к клеткам культур тканей семенника и яичника, наблю-

дается пикноз ядра, вакуолизация цитоплазмы, нарушение структуры внутриклеточных органелл, изменение контуров протоплазматической мембраны, появление крупных вакуолей, содержащих кислую фосфатазу, и выход этого фермента в цитоплазму клетки. Большие дозы специфичной к данному виду ткани цитосыворотки значительно угнетают рост культур тканей, а малые дозы, наоборот, стимулируют ростовые потенции клеток и усиливают в них обменные процессы, о чем свидетельствует повышение активности ряда ферментативных реакций. С помощью малых доз антителикулярной и антиовариальной цитотоксических сывороток можно стимулировать рост тканей семенника и яичника не только молодых, но и старых животных. Малые дозы указанных цитосывороток оказывают на ткани старых животных даже более выраженное стимулирующее действие (по сравнению с исходным уровнем), чем на ткани молодых животных, которые и без стимулирующего воздействия характеризуются достаточно высоким ростом. В модельных опытах с созданием неблагоприятных условий культивирования и при экстремальных воздействиях на клетки была показана возможность повышения жизнестойкости клеток семенника и яичника с помощью малых доз антителикулярной (АТЦС) и антиовариальной (АОЦС) цитотоксических сывороток. В опытах на органном уровне [12] отмечено, что большие дозы АТЦС вызывают альтерацию клеток семенников, выраженную сосудистую реакцию, что приводит к развитию воспалительного процесса в семенных канальцах и интерстиции, в результате чего нарушается сперматогенная и гормонообразовательная функции органа.

В патофизиологическом эксперименте на целостном организме было показано [25, 26] стойкое угнетение половой активности и генеративной функции молодых половозрелых самцов после введения больших доз АТЦС. В качестве модели для испытания действия стимулирующих доз АТЦС на функцию половых желез были взяты старые самцы с утраченной половой активностью и способностью к оплодотворению. После применения малых доз АТЦС у 70 % старых самцов восстановилась половая активность и способность к оплодотворению. У молодых половозрелых самок обнаружено [12] угнетение половой функции после введения больших доз АОЦС; у стареющих (18 мес) самок крыс после введения малых доз АОЦС гистологически и путем определения течковой пробы было выявлено восстановление у них половой функции.

Перспективы дальнейшей разработки цитотоксических сывороток с целью их экспериментального изучения и практического применения требуют повышения их органной специфичности и получения сывороток с более узким целенаправленным действием. Для достижения этой цели использовали получение цитосывороток к отдельным внутриклеточным структурам, а также выделение и использование отдельных фракций иммуноглобулинов. В морфо-гистохимических исследованиях [15] показано, что антимикросомная АТЦС в малых дозах стимулирует обменные процессы в клетках семенника в значительно большей степени, чем АТЦС, полученная по отношению к цельной ткани. При исследовании свойств различных фракций иммуноглобулинов установлено, что комплементсвязывающая активность и цитотоксическое действие АТЦС, полученной к цельной ткани семенника и антимикросомной АТЦС связаны преимущественно с фракцией иммуноглобулинов класса G [21, 23]. В дальнейших исследованиях установлено, что большие дозы IgG вызывают в семенниках половозрелых животных изменения микроциркуляторного русла, повреждение генеративных и гормонопродуцирующих клеток — гландулоцитов (клеток Лейдига) и sustentоци-

тов (клеток Сертоли), выключая цитарную функции. Полученные подтверждены электрофизиологически [22]. Большие дозы IgM вызывающий эффект органо-денные старые самцам оказывают менее выраженное действие, что может быть обусловлено свойствами М и G.

Методом непрямой флуоресценции действия гамма-лигандной цитосыворотки. И люминесценция выявляется в ткани, а не выявляется в цитоплазме. При микроскопии устьев АТЦС выявляются изменения в физарном комплексе.

При изучении действия (АГЦС) на печень животного установлено, что при дозе **0,06 мкг белка на 100 г массы** такого же количества (γ-АГЦС), на фоне острого гепатита препятствует в значительной мере и в ряде случаев способствует снижению активности (желчеотделительной и желчных кислот), экскреции и содержания

В основе восстановления процессов регенерации в ней, **клеточном уровне**. АГЦС в печени и митотическое действие объема ядер гепатоцитов, белка в печени, по данным анализа активности в печени трансаминаз и трансаминаз и сорбитолдезаза белка в печени является антигепатотоксическим. Рост уровня желчеотделения ингибитора белковой метильной, что изменение целенаправленного действия печени, обменных и АГЦС носит фазный характер, направлен в сторону стимуляции метаболизма в печени в ответ на общую реакцию организма, что применение γ-АГЦС углеродом повышает устойчивость при нормализации в печени.

При применении γ-АГЦС четыреххлористым углеродом происходит стимуляция в этом случае баланс син-

тов (клеток Сертоли), выполняющих трофическую, секреторную и фагоцитарную функции. Полученные с помощью световой микроскопии данные подтверждены электронномикроскопическими исследованиями [16, 22]. Большие дозы IgM вызывают менее выраженный, чем IgG повреждающий эффект органа-мишени-семенника. Малые дозы IgM, введенные старым самцам с возрастной гипофункцией гонад, также оказывают менее выраженное реактивирующее действие, чем IgG, что может быть обусловлено особенностями иммуноглобулинов классов М и G.

Методом непрямой флуоресцентной микроскопии исследована специфичность действия гамма-глобулина и IgG, выделенных из тестикулярной цитосыворотки. Исследования показали, что яркая (+++++) люминесценция выявляется в цитоплазме клеток сперматогенного эпителия и не выявляется в других органах. С помощью световой и электронной микроскопии установлено [13, 14], что в ответ на введение АГЦС выявляются изменения также в надпочечнике и гипоталамо-гипофизарном комплексе.

При изучении действия антигепатоцитотоксической сыворотки (АГЦС) на печень животных в условиях ее поражения различной этиологии установлено, что трехкратное применение АГЦС крысам в дозе 0,06 мкг белка на 100 г массы тела в гамма-глобулиновой фракции или такого же количества выделенного из АГЦС гамма-глобулина (γ -АГЦС), на фоне острого поражения печени четыреххлористым углеродом препятствует в значительной степени нарушению функции печени и в ряде случаев способствует их более быстрой нормализации. Это касается желчеотделительной функции (выделение жидкой части желчи и желчных кислот), экскреторной функции, по данным бромсульфалеиновой пробы и содержанию билирубина в крови [1].

В основе восстановления нарушенных функций печени лежат процессы регенерации в ней, развертывающиеся на клеточном и внутриклеточном уровне. АГЦС и γ -АГЦС стимулируют синтез ДНК в клетках печени и митотическое их деление, в определенные сроки увеличивают объем ядер гепатоцитов. АГЦС и γ -АГЦС стимулируют синтез белка в печени, по данным включения меченых аминокислот, нормализуя активность в печени ферментов аланинаминотрансферазы, аспартат-аминотрансферазы и $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATФазы}$, а также орнитинкарбамоилтрансферазы и сорбитолдегидрогеназы [9]. Стимуляция процессов синтеза белка в печени является основой стимуляции ряда функций печени антигепатоцитотоксической сывороткой. В частности показано, что прирост уровня желчеотделения при действии АГЦС ликвидируется применением ингибитора белкового синтеза циклогексимида. Следует отметить, что изменение целого ряда показателей функционального состояния печени, обменных и регенераторных процессов в ней под влиянием АГЦС носит фазный характер, однако общий баланс этих изменений направлен в сторону стимуляции. Применение γ -АГЦС нормализует метаболизм в печени в такой степени, что это находит проявление в общей реакции организма на экстремальные воздействия. Показано [2], что применение γ -АГЦС на фоне поражения печени четыреххлористым углеродом повышает устойчивость крыс к острой гипоксической гипоксии при нормализации окислительно-восстановительных процессов в печени.

При применении γ -АГЦС на фоне хронического поражения печени четыреххлористым углеродом с признаками начинающегося цирроза также происходит стимуляция регенераторных процессов в печени. Однако в этом случае баланс синтеза ДНК в паренхиматозных и ретикулоэндо-

надпочечниках и появлении морфологических признаков функционального напряжения коры надпочечников. Введением больших доз анти-мозговой супрареноцитотоксической сыворотки достигали угнетения функционального состояния мозговой части надпочечника, а малые дозы той же сыворотки повышали его функцию, что проявлялось в повышении экскреции адреналина с мочой, увеличении его содержания в надпочечниках, а также в снижении содержания норадреналина в мозге. При изучении непосредственного действия антикортикосупраренальной цитотоксической сыворотки на клетки надпочечника в культуре тканей показано [18], что большие дозы сыворотки вызывали угнетение роста и деструкцию клеток. При этом клетки пучковой зоны оказались более чувствительными к действию больших доз, чем клетки клубочковой зоны. Малые дозы сыворотки приводили к стимуляции роста клеток и улучшению их жизнедеятельности.

В экспериментальной и клинической литературе имеются многочисленные доказательства участия иммунных механизмов в патогенезе заболеваний сердца [4, 19, 28, 30]. Эта проблема нашла свое отражение в исследованиях сотрудников отдела. В опытах на изолированном сердце было показано [8], что при однократном пропускании через сердце раствора, содержащего антикардиальную цитотоксическую сыворотку, значительно увеличивается амплитуда сердечных сокращений и уменьшается их частота. При увеличении дозировки антикардиальной цитосыворотки путем повторных ее введений в циркулирующую жидкость наблюдалось ослабление амплитуды и резкое уменьшение частоты сердечных сокращений.

В дальнейших исследованиях с применением электрофизиологических методов (вне- и внутриклеточного отведения электрической активности) было изучено влияние специфических антикардиальных анти-тел на электрическую (мембранный потенциал, потенциал действия и сопротивление мембраны) и механическую (изометрическое напряжение) активность клеток сократительного миокарда [17, 29]. Наряду с этим, изучена роль некоторых биологически-активных веществ (гистамина) в реакции антиген — антитело. Антикардиальные антитела в малой дозе вызывают стимуляцию механической активности сердечных клеток, о чем свидетельствует увеличение амплитуды, частоты, скорости нарастания и прироста сокращений в лестнице Боудича. Показано, что такое действие антител связано с активацией потенциалзависимых медленных натрий-кальциевых каналов. Об этом свидетельствует значительное подавление этого эффекта специфическим блокатором медленных натрий-кальциевых каналов — соединением Д-600. С увеличением концентрации антикардиальных антител наступает деполяризация мембраны сердечных клеток, увеличивается проницаемость ее к ионам натрия, что в конечном итоге приводит к развитию депрессии в процессах электромеханического сопряжения. Эти явления обусловлены активацией потенциалзависимых калиевых каналов возбудимой мембраны. Вызванное антителами нарушение электромеханической связи в миокардиальных клетках можно в значительной степени предотвратить предварительной блокадой калиевых каналов тетраэтиламмонием или увеличением концентрации ионов кальция.

Полученные в эксперименте данные позволили поставить вопрос о создании аналогичных сывороток, специфичных к ткани половых желез человека, и применении их в клинике. В 1966 г. в Институте физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР впервые были получены антитестикулярная (Ю. А. Спасокукоцкий, О. В. Нищименко, Ю. А. Борисенко) и антиовариальная (Ю. А. Спасокукоцкий, Н. С. Бак-

механизмов, с целью активного воздействия на функциональные отправления клеток, органов и систем организма. Все более перспективным становится применение специфических антител в клинической практике как для диагностики и профилактики, так и для лечения многих заболеваний человека. Работами отечественных и зарубежных исследователей подтверждены и развиты основные концепции А. А. Богомольца и его школы, доказана перспективность использования антител-цитотоксинов для активного вмешательства в процессы регуляции деятельности практически любых клеточных элементов.

N. V. Ilchevich, Yu. A. Spasokukotsky, I. N. Alekseeva,
L. I. Barchenko, T. M. Zelenskaya, O. V. Nishchimenko,
T. M. Bryzgina, T. I. Galenko, R. J. Yanchy

DEVELOPMENT OF A. A. BOGOMOLETZ'S IDEAS IN THE EXPERIMENTAL STUDY AND PRACTICAL APPLICATION OF CYTOTOXIC SERA

Summary

The paper bears on the results of studies in the mechanisms of organ cytotoxic (antiovarian, antitesticular, antihepatocytotoxic, anticardial, antimyocytotoxic, anticortico-suprarenal) sera action at the intracellular, cellular and organ level, in the way of increasing of their specificity and a possibility of practical application.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Алексеева И. Н. Противопеченочные антитела и функции печени. Киев: Наук. думка, 1980. 181 с.
2. Алексеева И. Н., Березовский В. А., Ильевич Н. В., Назаренко А. И., Носарь В. И. О влиянии функционального состояния печени на устойчивость крыс к острой гипоксии. — Патол. физиология, 1979, № 1, с. 65—66.
3. Алексеева И. М., Касаткина М. Г., Брызгина Т. М. Вплив антигепатоцитотоксичної сироватки на функціональний стан печінки при її ураженні екзогенними жовчаними кислотами. — Фізіол. журн., 1976, 25, № 5, с. 604—609.
4. Антоненко В. Т. Патологическая физиология иммунных повреждений сердца. Киев: Наук. думка, 1979. 261 с.
5. Барченко Л. И. Действие стимулирующих доз антитестикулярной и антиовариальной цитотоксических сывороток на эксплантаты половых желез животных разного возраста. — Бюл. эксперим. биологии медицины, 1968, № 3, с. 106—108.
6. Барченко Л. И. Влияние больших и малых доз цитотоксических сывороток на выживаемость тканевых культур при воздействии на них неблагоприятных факторов. — Цитотоксины в соврем. медицине, 1969, № 5, с. 59—65.
7. Барченко Л. И. Электронномикроскопическое и гистохимическое изучение первичной реакции лизосом и комплекса Гольджи на действие малых доз специфических антител. — Физиол. журн., 1979, № 6, с. 715—723.
8. Воробей А. И. Влияние антикардиальной цитотоксической сыворотки на изолированное сердце кролика. — В кн.: Цитотоксины в современной медицине. Киев, 1967, т. 4, с. 120—124.
9. Галенко Т. И. Исследование действия антигепатоцитотоксической сыворотки на активность ферментов в печени и сыворотке крови: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Киев, 1977. 16 с.
10. Голубович З. С. Вікові особливості показників вуглеводного обміну в скелетному м'язі білих щурів під впливом направленої дії антиміоцитотоксичної сироватки. — Фізіол. журн., 1974, 20, № 5, с. 608—614.
11. Гоноровский А. Г. Влияние иммунной антиовариальной цитотоксической сыворотки на функциональное состояние яичников женщины при некоторых формах их недостаточности: Автореф. дис. ... канд. наук, Киев, 1973. 19 с.
12. Зеленская Т. М. Влияние антиовариальной и антитестикулярной цитотоксических сывороток на функциональное состояние и морфологические структуры яичников и семенников крыс в возрастном аспекте: Автореф. дис. ... канд. мед. наук, К., 1967. 20 с.
13. Зеленська Т. М. Зміни в гіпоталамо-гіпофізарній нейросекреторній системі при інгі-

