

Б. А. СИМОНЯН, В. И. СИСЕНКО

## ДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ АНТИГЕНОВ И КОМПЛЕКСОВ АНТИТЕЛО-АНТИГЕН НА ИЗОЛИРОВАННОЕ СЕРДЦЕ ИНТАКТНЫХ И ИММУНИЗИРОВАННЫХ КРОЛИКОВ

Известно, что для изучения механизма сенсibilизации и действия образованного *in vitro* комплекса антитело-антиген в эксперименте используются изолированные органы различных лабораторных животных. Наиболее часто с этой целью применяются препараты гладкомышечных органов: изолированная матка, петля тонкой или сигмовидной кишки, изолированное ухо (где учитывается реакция сосудов, мышечную основу которых также составляет гладкая мускулатура). В качестве примера можно привести данные работы Кулька [6], который установил в опытах на изолированной матке, что сила сокращений волокон этого органа зависит не столько от количества введенного в перфузионный ток комплекса антитело-антиген, сколько от его состава.

Трапани, Гарвей и Кэмпбл [7] установили (на изолированной сигмовидной кишке морской свинки), что наибольшим сократительным эффектом обладает комплекс антитело-антиген, образованный в зоне избытка антигена (от незначительного до выраженного). Это наблюдение в последующем было подтверждено многими исследователями.

Сведения об аналогичных опытах на органах с поперечнополосатой мускулатурой или на сердце (миокард которого, как известно, состоит из поперечно-полосатых мышечных волокон, образующих синцитий) весьма редки.

В 1964 г. Лямперт, Грызлова и Белецкая [1] в опытах на изолированных сердцах интактных кроликов показали, что введение в перфузионный ток сыворотки кролика, содержащей аутоантитела к сердечной ткани, приводило в ряде случаев к нарушению ритма сокращений изолированного органа.

Эти сведения, однако, были предвосхищены работой Хай и Корневой [5], еще в 1959 г. показавших, что при экспериментальном аутоиммунном процессе у кроликов (когда регистрировались аутоантитела к сердечной ткани) наблюдаются резкие изменения электрических потенциалов сердца на электрокардиограмме, которые можно было бы трактовать, как диффузное поражение миокарда с нарушением проводящей системы его.

Таким образом, в настоящее время имеются предпосылки полагать, что миокард, так же как и гладкомышечные органы, способен реагиро-

вать на иммунный комплекс антитело-антиген. Можно полагать также, что изолированное сердце животного способно реагировать не только на введение антител к его собственной ткани, но и вообще на любой комплекс антитело-антиген. Выяснение этого вопроса и явилось целью настоящей работы.

**Методика и материал.** Предпринятые опыты были проведены на изолированных сердцах интактных кроликов и кроликов, иммунизированных различными белковыми антигенами. Препарат изолированного сердца кролика готовили по методу Витебского, перфузия производилась через аорту и коронарные сосуды подогретым до 38°C раствором Рингера-Локка для теплокровных животных. Аэрация перфузируемой жидкости осуществлялась кислородом (из специального баллона со сжатым кислородом). Испытуемые препараты (антигены или раствор комплекса антитело-антиген) вводились в перфузионный ток на расстоянии 5—10 см от органа, против тока жидкости. В качестве антигенов использовались цельные сыворотки лошади, барана и быка и отдельные белковые фракции этих сывороток (альбумин, выделенный по методу Адаира и Робинсона, и  $\gamma$ -глобулин, выделенный по методу Кона).

Иммунные сыворотки к этим антигенам готовились посредством иммунизации кроликов указанными антигенами путем внутривенных инъекций 10—20 мг белка на 1 кг веса, с интервалом между инъекциями в 3—4 дня (по 6—10 инъекций на цикл иммунизации). При использовании изолированных органов иммунных животных их иммунизация проводилась аналогично.

Для определения концентрации белка в антигенах использовалась количественная биуретовая реакция. Измерения производились на электрофотокolorиметре типа ФЭК-М.

Запись работы изолированного сердца осуществлялась на движущейся ленте кимографа.

Опыты были проведены на 27 кроликах, влияние чужеродного антигена на изолированное сердце было испытано на 7 из них, действие комплекса антитело-антиген—на 2-х, действие гемолитической сыворотки на сердце интактных кроликов—на 5-и, лошадиной сыворотки, альбумина и  $\gamma$ -глобулина этой сыворотки—на 13 животных, иммунизированных этими антигенами.

**Результаты опытов и обсуждение.** Относительно большое число опытов (треть всех животных) с введением антигенов в перфузионный ток изолированных органов интактных животных объясняется опасением, что чужеродный белок может привести к серьезным нарушениям в деятельности сердца, которые будет трудно дифференцировать от изменений, вызванных комплексом антитело-антиген. Результаты указанных опытов приведены в табл. 1.

Как видно из таблицы, введение в перфузионный ток различных чужеродных сывороток приводило к весьма разнообразным реакциям изолированного органа: либо наступала аритмия и экстрасистолия сердечных сокращений, либо изменялась частота сокращений, либо, наконец, изменялась глубина, или сила сокращений миокарда, что выражалось в изменении амплитуды колебаний писчика, регистрирующего эти изменения на ленте кимографа.

Опытов с применением комплекса антитело-антиген, приготовленного *in vitro* в зоне эквивалентных отношений антител и антигена (проверялось по реакции Гейдельбергера), на изолированных сердцах интактных кроликов было проведено всего два. Как и следовало ожидать,

Таблица 1

Влияние чужеродных белковых антигенов на деятельность изолированного сердца кролика

Характер вводимого вещества	Число подопытных животных	Число животных со следующими изменениями в работе изолированного сердца					
		аритмия	экстрасистолия	урежение сокращений	увеличение частоты	снижение амплитуды	остановка сердечных сокращений
Лошадиная сыворотка	3	—	2	2	1	2	—
Сыворотка барана	2	—	—	1	—	1	—
Сыворотка быка	2	1	—	—	—	1	—

такой комплекс не растворялся в нейтральном Рингер-Локковском растворе. Введение же в перфузионный ток его суспензии, естественно, приводило к ряду нарушений в деятельности сердца, что связано, очевидно, с эмболией коронарных артерий и капилляров. Растворения комплекса в избытке антигена не производилось из опасений неспецифичности реакций, зависящих от самого антигена, о которых речь шла выше.

Пять опытов было проведено на изолированных сердцах интактных кроликов с применением гемолитической сыворотки кролика к эритроцитам барана.

Как известно, эритроциты барана (как и некоторые ткани разных животных, в том числе сердце кролика) содержат видовонеспецифичный антиген Форсмана, в связи с чем в гемолитической сыворотке должны содержаться антитела к нему. Перфузия такой сыворотки через коронарные сосуды сердца могла привести к значительным изменениям в его деятельности. Неспецифического действия сывороток при этом можно было не опасаться, так как это были сыворотки того же вида животных.

Действительно, в 2 опытах из 5 наблюдалось значительное уменьшение амплитуды (силы, глубины) сокращений при уменьшении их частоты, а в трех опытах наступила полная остановка сердечных сокращений. Так как введение сыворотки производилось после того, как оттекающая от сердца жидкость становилась совершенно прозрачной и бесцветной (когда в просвете сосудов не оставалось больше сыворотки и эритроцитов крови кролика), то реакция, приводившая к остановке сердца, могла, очевидно, происходить только в ткани сердца или на поверхности сосудистой стенки. Мы склонны рассматривать отмеченный эффект как действие комплекса антитело-антиген (антитела вводятся при этом с гемолитической сывороткой, а антигеном мог служить форсмановский антиген самой сердечной ткани).

Действие различных антигенов (лошадиной сыворотки, альбумина и  $\gamma$ -глобулина этой же сыворотки) было испытано также в опытах на:

изолированных сердцах 13-и кроликов, иммунизированных этими антигенами. Результаты опытов представлены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние различных антигенов на деятельность изолированных сердец кроликов, иммунизированных теми же антигенами

Сердце изолировано от кроликов, иммунизированных	Вводимые антигены	Число животных	Число животных со следующими изменениями в работе изолированного сердца					
			аритмия	экстрасистолия	уменьшение частоты	увеличение частоты	снижение амплитуды	остановка сокращений
Лошадиной сывороткой	лошадиная сыворотка	7	4	4	4	—	4	3
Альбумином	альбумин	2	2	2	2	—	2	—
Глобулином	глобулин	4	4	4	4	—	4	—

Как видно, введение в перфузионный ток  $\gamma$ -глобулина и альбумина приводило к различным изменениям в работе изолированного сердца.

Однако подобные изменения те же антигены вызывали и при введении их в перфузионный ток изолированных сердец интактных животных (табл. 1). При применении многокомпонентной антигенной системы—лошадиной сыворотки—в трех случаях из 7-и имела место остановка сердца, в остальных 4-х случаях—различные изменения, которые, однако, трудно было дифференцировать от неспецифических изменений, вызванных введением лошадиной сыворотки, о которых речь шла в первой серии опытов.

Таким образом, в случае применения чужеродных антигенов (белков) как специфическую реакцию на комплекс антитело-антиген следует, по-видимому, рассматривать остановку сердца. Все другие изменения можно наблюдать и при применении чужеродного белка на изолированном сердце интактного животного.

Институт экспериментальной биологии  
АН АрмССР

Поступило 10.IV 1969 г.

Բ. Ա. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Վ. Ի. ՍԻՍԵՆԿՈ

ՏԱՐԲԵՐ ՀԱԿԱՄԻՆՆԵՐԻ ԵՎ ՀԱԿԱՄԻՆ-ՀԱԿԱՄԱՐՄԻՆ ԿՈՄՊԼԵՔՍՆԵՐԻ ԱԶՐԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ԻՄՈՒՆ ՃԱԳԱՐՆԵՐԻ ԱՆՁԱՏ ՍՐՏԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո ս ւ մ

Սենսիբիլիզացիայի և հակածին-հակամարմին in vitro ստացված կոմպլեքսի ազդեցության ուսումնասիրության նպատակով, սովորաբար օգտագործվում են տարբեր կենդանիների հարթ մկանային օրգանները:

Հաշվի առնելով անջատ սրտի աշխատանքի զրանցման հնարավորությունը և այդ տիպի աշխատանքների սակավությունը, մենք մեր փորձերը կատարեցինք ինտակտ և իմուն ճազարների անջատ սրտերի վրա: Հետազոտության նպատակն էր ապացուցել, որ անջատ սիրտն ընդունակ է պատասխանել ոչ միայն իր սեփական հյուսվածքի հակամարմին-հակածին կոմպլեքսի ազդեցությանը, այլ և ընդհանրապես ամեն մի հակածին-հակամարմին կոմպլեքսի:

Ստացված տվյալներից բխում է, որ օտար հակածինների (սպիտակուցների) օգտագործման դեպքում սրտի աշխատանքի դադարը կարելի է դիտել որպես յուրահատուկ ռեակցիա ի պատասխան հակածին-հակամարմին կոմպլեքսի ազդեցությանը:

Մյուս բոլոր փոփոխությունները դիտվում են և օտար հակածինների ազդեցության ժամանակ ինտակտ կենդանիների սրտերի վրա:

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Лямперт И. М., Грызлова О. Н., Белецкая А. В. *Вопр. ревматизма*, 3, 1964.
2. Мишер П., Форлендер К. *Иммунопатология в клинике и эксперименте и проблема аутоантител*. Медгиз, 1963.
3. Сисенко В. И. *Бюлл. exper. биол. мед.*, 5, 1958.
4. Федоров Н. А., Владос Х. Х. и др. *Экспериментальные и клинические материалы по исследованию новых цитотоксических сывороток*. Медгиз, 1955.
5. Хай Л. М., Корнева Е. А. *Ежегодник ИЭМ*, 1959.
6. Kulca *Jurnal Immunologi* 43, 273, 1942.
7. Trapani an, Garvey, *Campbel Science*, 127, 700, 1958.