ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ. ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР. БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ

XX, № 9, 1967

Л. А. БУРОВА, Б. А. СИМОНЯН

К ВОПРОСУ О ХАРАКТЕРИСТИКЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ ОСЛИНЫХ ПРОТИВОТКАНЕВЫХ СЫВОРОТОК

Со времени получения первых цитотоксических противотканевых сывороток Борде [11], И. И. Мечниковым [9], Линдеманом [15] и др. вопрос об их специфичности до настоящего времени остается в центре внимания исследователей.

Органная специфичность установлена для сывороток к органам и тканям, физиологически изолированным от организма (хрусталик глаза, тестикулы, яичники, щитовидная железа и т. д.) [18, 19]. В этих сыворотках, как правило, отсутствуют видовые антитела. Об органной специфичности к другим органам и тканям мнения весьма разноречивы. Некоторые исследователи [2, 10, 14] полностью отрицают какую бы то ни было специфичность цитотоксинов. Другие авторы [1, 4, 7, 8, 12, 17] признают относительную их органную специфичность. И наконец, некоторые исследователи [3 и др.] находят эти сыворотки высоко органно специфичными. С целью выявления их органной специфичности нами в различных серологических реакциях проведено сравнительное изучение отношения ослиных противотканевых сывороток к сердечной и почечной тканям кролика.

Материалы и методы. Противотканевые цитотоксические сыворотки (антисердечная и антипочечная) были получены при иммунизации ослов экстрактами из соответствующих органов, приготовленных по методу Витебского с соавторами [19]. В полученных экстрактах содержание белка определялось по биуретовой реакции на фотоэлектроколориметре. Содержание белка в сердечных экстрактах колебалось от 18 до 24 мг/мл, в почечных экстрактах от 20 до 30 мг/мл. При иммунизации эти экстракты вводились ослам парентерально по следующей схеме: первая инъекция—25 мл экстракта с равным объемом смеси по Фрейнду [13] под кожу в 5 различных мест; вторая инъекция—25 мл экстракта с 5 мл смеси Фрейнда в два различных места под кожу; третья инъекция—25 мл экстракта без смеси Фрейнда под кожу; четвертая инъекция—12,5 мл экстракта с равным объемом смеси Фрейнда внутрикожно в несколько мест. Интервалы между инъекциями 2—3 недели. Пробы крови забирались и исследовались перед каждой инъекцией и через 7, 14, 21 и 31 день после окончания иммунизации. Наивысшие титры наблюдались на 21—31 день после окончания иммунизации. Полученные цитотоксические сыворотки были исследованы в реакции связывания комплемента на холоду по В. И. Иоффе [6] и в реакции преципитации в геле по Оухтерло-

ии в микромодификации А. И. Гусева и В. С. Цветкова [5]. Все сыворотки исследовались в перекрестных реакциях и в опытах адсорбции. Помимо этого сыворотки были исследованы электрофоретически по Виему [20].

Результаты. Для контроля титров полученных сывороток цитотоксические сыворотки исследовались в реакции связывания комплемента и в реакции преципитации в геле на протяжении всего периода иммунизации. Детальному анализу были подвергнуты сыворотки с наибольшими титрами по РСК и реакции преципитации в геле. Взятые перед иммунизацией и после ее окончания сыворотки животных были исследованы электрофоретически. Полученные данные представлены на рис. 1, на котором видно некоторое увеличение гамма-глобулинов в иммунных сыворотках.

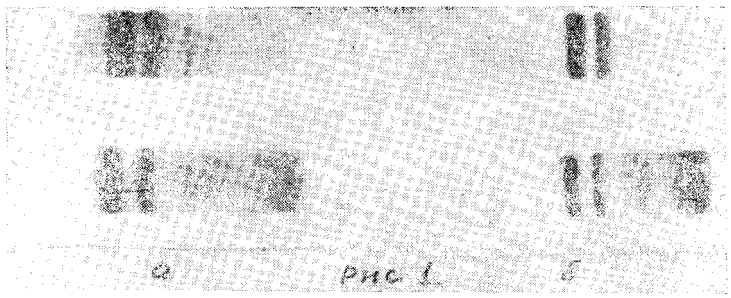

Рис. 1. Электрофоретическое исследование ослиных сывороток до и после окончания иммунизации (рис. 1а — верхняя электрофореграмма — ослиная сыворотка до иммунизации, нижняя электрофореграмма — ослиная сыворотка после окончания иммунизации экстрактом кроличьей почки; рис. 1б — верхняя электрофореграмма — ослиная сыворотка до иммунизации, нижняя электрофореграмма — ослиная сыворотка после окончания иммунизации экстрактом кроличьего сердца).

Общие данные по характеристике цитотоксических сывороток в перекрестных реакциях с экстрактами из сердечной и почечной тканей, а также с нормальной сывороткой кролика приведены в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика ослиных цитотоксических сывороток в перекрестных реакциях РСК

Тип сыворотки	Титры антител		
	К экстрактам из тканей (1 мг белка 1 мл)		К сыворотке интактного кролика (0,01 мг белка мл)
	сердца	почки	
Против экстракта ткани сердца кролика	1/320	1/160	1/40
Против экстракта ткани почки кролика	1/80	1/640	0

Как видно, оба типа сывороток перекрестно реагировали с указанными тканевыми антигенами. Антисердечная сыворотка реагировала с нормальной сывороткой кролика до $^1/_8$ титра к гомологичному антигену. При этом реакция выявлялась только при концентрации антигена 0,01 мг белка в 1 мл. При больших и малых концентрациях антигена реакция была отрицательной. Антипочечная сыворотка с экстрактом почки реагировала лучше, чем с экстрактом из сердца. Антисердечная сыворотка реагировала почти одинаково как с почечным, так и сердечным антигенами.

Опыты адсорбции цитотоксических сывороток тканевыми антигенами и антигенами нормальной сыворотки кролика с последующим исследованием адсорбированных антисывороток в перекрестных реакциях с сердечным, почечным и сывороточным антигенами были осуществлены следующим образом. Для адсорбции тканевыми антигенами к 0,1 мл иммунсыворотки добавлялось 10 мг белка соответствующего тканевого экстракта, а для адсорбции нормальной кроличьей сывороткой — объем сыворотки, содержащий 20 мг белка. Смесь инкубировалась в течение 2 часов при 37° и в течение 18—20 часов при 4°, затем диализовалась против дистиллированной воды 18—20 час. и фракционировалась пропусканием CO_2 с последующим центрифугированием для удаления выпавшего комплекса антиген-антитело. Надосадок нормализовался добавлением соответствующего количества хлористого натрия до концентрации 0,15 М.

Опыты адсорбции показали, что антипочечная сыворотка содержит антитела к общим антигенам сердца и почки (адсорбция нормальной кроличьей сывороткой) и антитела к антигенам специфическим для почки, т. е. органоспецифичные противопочечные антитела (адсорбция экстрактом сердца). Адсорбция этой сыворотки экстрактом почки целиком истощала ее ко всем антигенам.

Антисердечная сыворотка содержала только антитела к общим антигенам сердца и почки, так как адсорбция этой сыворотки экстрактами из тканей почки и сердца также целиком истощала ее к обоим антигенам. Таким образом, РСК не позволила установить органоспецифические антитела к сердцу в антисердечной сыворотке.

Исследование цитотоксических сывороток в реакции преципитации в геле показало, что обе сыворотки перекрестно реагировали со всеми тремя антигенными субстанциями: экстрактами из тканей сердца и почки и нормальной кроличьей сывороткой (рис. 2). В отношении нормальной кроличьей сыворотки для обеих иммунсывороток была характерно выраженная зональность, т. е. отсутствие реакции при большой концентрации антигена.

Отчетливая реакция с нормальной сывороткой выявлялась при разведениях антигена 1/256—1/2048. Аналогичное явление наблюдалось и в РСК с антисердечной сывороткой. Для дифференциации состава антител цитотоксических сывороток были поставлены опыты их адсорбции тка-

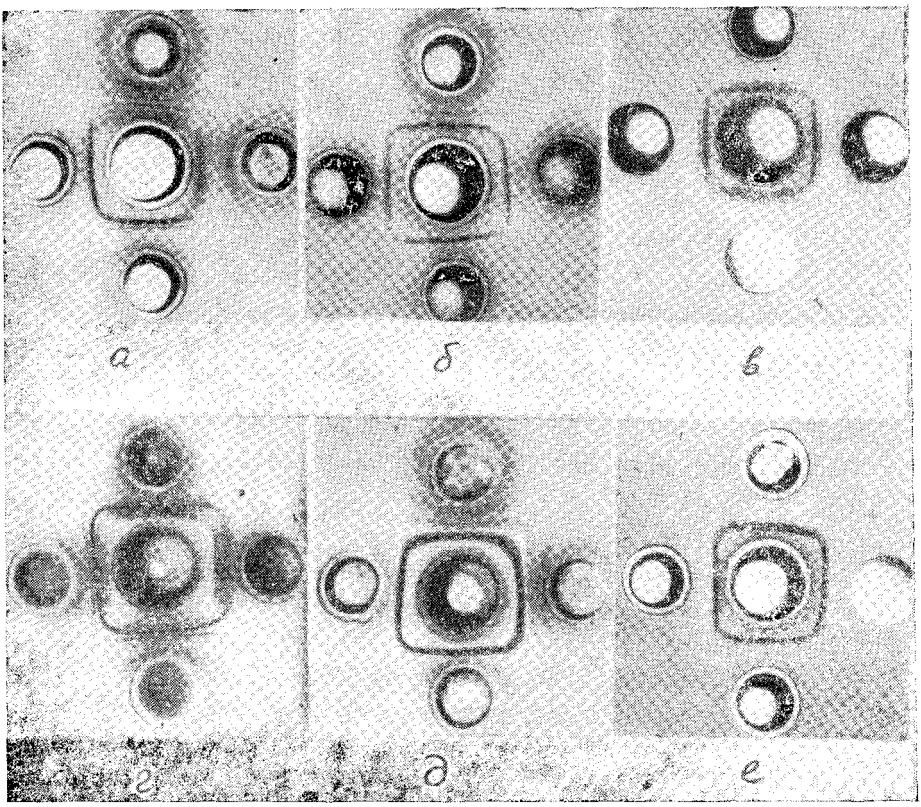

Рис. 2. Исследование ослиных цитотоксических сывороток в перекрестных опытах в реакции преципитации в геле (рис. 2а — антисердечная сыворотка в центральной лунке, в периферических—экстракт из сердечной ткани от цельного до 1/8; рис. 2б — в центральной лунке — антисердечная сыворотка, в периферических лунках — экстракт из почечной ткани кролика от цельного до 1/8; рис. 2в— в центральной лунке — антисердечная сыворотка, в периферических — нормальная кроличья сыворотка от 1/256 до 1/2048; рис. 2г, д, е — в центральной лунке — антипочечная сыворотка в периферических: рис. 2г — экстракт из сердечной ткани от цельного до 1/8, рис. 2д — экстракт из почечной ткани от цельного до 1/8, рис. 2е — нормальная кроличья сыворотка от 1/256 до 1/2048).

невыми экстрактами и сывороткой с последующим исследованием адсорбированных сывороток перекрестно в реакции преципитации в геле. Данные, полученные при исследовании исходных и адсорбированных сывороток в реакции преципитации в геле, приведены в табл. 2.

Как видно из данных таблицы, нативные сыворотки реагировали с экстрактами из сердца и почки, а также с нормальной кроличьей сывороткой. Сыворотки, адсорбированные нормальной сывороткой кролика, реагировали только с экстрактами из сердца и почки. При адсорбции этой сыворотки экстрактом сердца она теряла способность реагировать с любым из перечисленных антигенов. То же можно отметить и для антипочечной сыворотки: она полностью истощалась гомологичными и частично гетерологичными органами.

Таблица 2

Характеристика нативных и адсорбированных цитотоксических сывороток в перекрестных реакциях преципитации в геле

Антигены	Антисердечная сыворотка				Антипочечная сыворотка			
	нативная	адсорбированная			нативная	адсорбированная		
		сердцем	почкой	нормальной сывороткой		сердцем	почкой	нормальной сывороткой
Экстракт из сердца	+	—	+	+	—	—	—	+
Экстракт из почки	+	—	—	+	—	+	—	+
Нормальная сыворотка кролика	+	—	—	—	+	—	—	—

Таким образом, в каждой из цитотоксических сывороток имелись три рода антител: сывороточные антитела, антитела к антигенам, общим для сердечного и почечного экстрактов, антитела к органоспецифическим антигенам.

Наиболее отчетливо органоспецифические антитела в цитотоксических сыворотках показаны на рис. 3. Как видим, в центральные лунки налиты цитотоксические сыворотки, адсорбированные с антигенами ге-

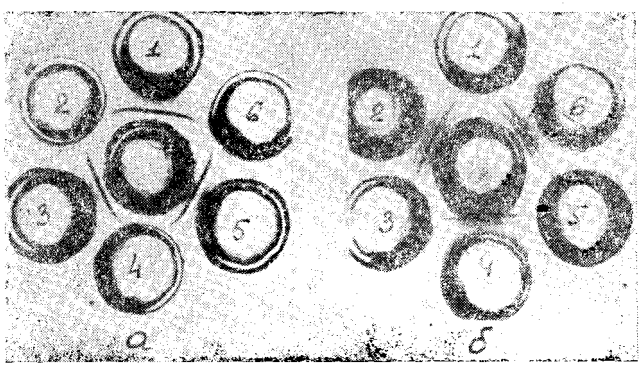

Рис. 3. Выявление органоспецифических антител в ослиных цитотоксических сыворотках (рис. 3а — в центральной лунке антисердечная сыворотка, адсорбированная экстрактом почечной ткани, рис. 3б — в центральной лунке антипочечная сыворотка, адсорбированная экстрактом сердечной ткани, в периферических лунках на обоих рисунках, № 1, 3, 5 — экстракт из ткани сердца, № 2, 4, 6 — экстракт из ткани почки).

терологичного органа (антисердечная—почкой, рис. 3а, антипочечная—сердце, рис. 3б), а в периферические—антигены сердца и почки. Реакция за счет общих антител здесь отсутствует, реагируют только органоспеци-

фические антитела. При исследовании этих сывороток с экстрактами сердца и почки крыс (т. е. животного другого вида) было показано, что обе сыворотки реагируют как с сердечными, так и с почечными экстрактами, что указывает на относительную видовую специфичность исследованных сывороток, т. е. на наличие общих тканевых антигенов у этих видов животных. Реакция цитотоксических сывороток с соответствующими антигенами не связана с наличием антител к антигену Форсмана, так как адсорбция этих сывороток бараньими эритроцитами не изменяла характера реакции. Цитотоксические сыворотки не содержали также антител к изоантигенам. Адсорбция цитотоксической сыворотки гомологичным антигеном не сохраняла антител к гомологичным же антигенам, полученным от разных животных одного и того же вида.

Институт экспериментальной биологии
АН АрмССР

Поступило 21.III 1967 г.

Լ. Ա. ԲՈՒՐՈՎԱ, Ջ. Ա. ՍԻՄՈՆՅԱՆ

ԱՎԱՆԱԿՆԵՐԻ ՀԱԿԱՀՅՈՒՍՎԱԾՔԱՅԻՆ ՇԻՃՈՒԿՆԵՐԻ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳՐՄԱՆ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՋԸ

Ա մ փ ո փ ո ւ մ

Աշխատության մեջ տրված է ցիտոտոքսիկ շիճուկների բնութագիրը, որոնք ստացվել են ավանակներին ձագարների սրտի և երիկամի հյուսվածքային անտիգենով իմունիզացնելու հետևանքով։ Նույց է տրված (ավելի ցայտուն՝ պրեցիպիտացիան ագարում) հետազոտվող շիճուկներում հակամարմինների առկայությունը շիճուկային անտիգենի և հյուսվածքային անտիգենի հանդեպ, որոնք ընդհանուր են սրտի ու երիկամի նկատմամբ և հակամարմինների համապատասխան օրգանի հանդեպ։ Ցիտոտոքսիկ շիճուկների ռեակցիաները համապատասխան անտիգեններով կապված չեն Ֆորսմանի անտիգենի և իզոանտիգենների հետ հակամարմինների առկայությամբ։

ЛИТЕРАТУРА

1. Барченко Л. И. Пат. физ. и экспер. биол., т. 9, 4, 38—43, 1965.
2. Благман Г. Ф. Клин. мед., 12, 95, 1940.
3. Викторов К. Р.— М., 1946.
4. Вовк С. И. Тр. каф. пат. физиол. Киевск. мед. ин-та, 75, 1938.
5. Гусев А. И., Цветков В. С. Лаб. дело, 2, 43—45, 1961.
6. Ноффе В. И., Розенталь К. М. ЖМЭИ, 12, 65, 1943.
7. Капичников М. М. Автореферат канд. диссерт., М., 1952.
8. Мажбич И. Б. Тр. Омск. мед. ин-та, т. 22, 184, 1957.
9. Мечников И. И. Русский арх. пат., т. II, 101, 1901.
10. Сангайло Е. П. Автореферат канд. диссерт., Л., 1949.
11. Bordet J. Anu Just Pasteur 12, 10, 1898.
12. Cavelfi P. A. Arch. Path. 44, 119—125, 1947.
13. Freund J. and Mc Dermaff K. Proc. Soc Exp. Biol. Med. 49, p. 548, 1943.
14. Latta H. Proc. Soc. Exp. Biol Med. 99, p. 392, 1958.
15. Lindeman W. aun Just Pasteur, t. 14, p. 49, 1900.

16. Nefedieff N. Anu Just Pasteur, t. 15, 1, p. 17—34, 1901.
17. Pressman D. and Sherman B. Immunol 67, 1, p. 21—33, 1951.
18. Uhleuhuth P. T. цит. Witebsky E. Anu 4, acad. sci 124, 1, p. 29, 1965.
19. Witebsky E., Rose N. and Shulman S. Immunol 75, p. 269—281, 1955.
20. Wieme R. Studies ou agar gel Electrophoresis, Brussel, 1959.