

В. М. БОНДАРЕВА

## ОСТРАЯ ИНСУЛИНОВАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ У ЦЫПЛЯТ, ВЫЗВАННАЯ ВВЕДЕНИЕМ АНТИИНСУЛИНОВОЙ СЫВОРОТКИ

(Представлено академиком Е. М. Крепом 23 IX 1969)

Важное значение инсулина в регуляции содержания сахара в крови млекопитающих является давно установленным фактом. У птиц же, согласно ряду исследователей, инсулин не оказывает значительного влияния на уровень гликемии (<sup>1-3</sup>), важное значение имеет лишь глюкагон (<sup>3</sup>).

Все авторы исходили из данных, полученных ими при оперативном выключении поджелудочной железы. Однако особенности анатомического строения этой железы у птиц делает ее удаление трудным. Кроме того, любой вид панкреатэктомии лишает организм панкреатического сока и вызывает двойную недостаточность — инсулиновую и глюкагоновую.

Экспериментальное выключение поджелудочной железы можно вызвать и введением в организм аллоксана и его гомологов, повреждающих В-клетки поджелудочной железы. Но птицы устойчивы к аллоксану, и введение его в организм не приводит к развитию диабета (<sup>4</sup>).

В последнее время при решении как практических, так и теоретических вопросов в биологии часто применяется иммунохимический метод. Этот метод применим и для выключения деятельности желез внутренней секреции. Такой метод выключения имеет значительные преимущества, так как позволяет проследить изменения в обмене веществ при специфической инактивации определенного гормона.

Начиная с 1955 г. опубликован ряд работ по экспериментальному получению антиинсулиновой сыворотки (АИС) у животных и сообщены различные методы обнаружения и количественного определения антител к инсулину (<sup>5-7</sup>). Введение сыворотки, содержащей антитела к инсулину млекопитающим, вызывает у них инсулиновую недостаточность, сопровождающуюся гипергликемией (<sup>6, 8-11</sup>).

Что же касается действия АИС на углеводный обмен птиц, то нам известна только одна работа Мирского (<sup>12</sup>), который показал, что АИС, введенная внутривенно уткам, вызывает у них значительное повышение концентрации сахара крови. Данные Мирского ясно доказывают существенное значение инсулина в регуляции гликемии у уток.

Для выяснения роли инсулина в регуляции содержания сахара в крови у кур мы также использовали метод биологической нейтрализации этого гормона.

АИС получали на морских свинках (*Cavia porcellus*), которых иммунизировали подкожными инъекциями кристаллического препарата инсулина (завод медпрепаратов Ленмясокомбината), суспендированного в адьюванте Фрейнда по прописи Паттерсона (<sup>13</sup>). Каждому животному вводили 0,5 мл суспензии, содержащей 10 ед. инсулина, один раз в неделю в течение 4 недель и затем в течение 3 мес. один раз в 2 недели в том же объеме адьюванта 25 ед. инсулина. Спустя 8 дней после последней инъекции, у каждой свинки кардинальной пункцией брали около 10 мл крови. Контрольную сыворотку получали от нормальных, не иммунизированных морских свинок, содержащихся в тех же условиях.

Активность полученной антисыворотки определялась реакциями преципитации и гемагглютинации. Реакция преципитации ставилась методом двойной диффузии в гель по Оухтерлони (14). При помощи этой реакции удавалось определить антитела только в цельной или разведенной в 2 раза антисыворотке.

Реакция пассивной гемагглютинации более чувствительна для выявления антител. Мы использовали технику постановки реакции пассивной гемагглютинации, разработанную Бойденом (15). Испытуемые иммуносыворотки давали положительную реакцию с антигеном в разведении 1 : 2560; 1 : 5120. Активность антисыворотки каждого иммунизированного животного была определена отдельно, после чего сыворотки сходной активности объединяли.

Полученная таким образом АИС использовалась в опытах для получения острой инсулиновой недостаточности у цыплят. В опыт были взяты 2 группы цыплят четырехмесячного возраста весом 500—600 г. Одна группа получала 2 мл АИС на 1 кг веса, другая, контрольная, — нормальную сыворотку морской свинки в том же количестве. Под местной анестезией в яремную вену цыпленка вводили полиэтиленовый катетр, через который вливали сыворотку и брали пробы крови. Спустя час, через каждые 30 мин. в течение 2 час. брали пробы крови для определения исходного уровня гликемии, затем одной группе цыплят вводили АИС, другой — контрольной — нормальную сыворотку морской свинки. Постинъекционные пробы крови брали с 30-минутными интервалами до окончания опыта. Концентрацию сахара в крови определяли ортотолуидиновым методом (16).

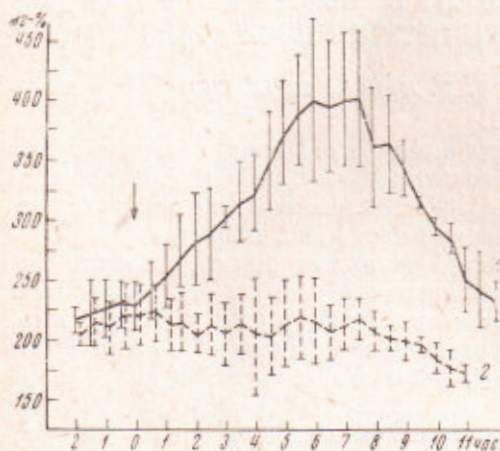


Рис. 1. Влияние антиинсулиновой сыворотки на содержание сахара в крови у четырехмесячных цыплят. 1 — АИС, 2 — нормальная сыворотка. Стрелкой отмечен момент введения сыворотки. Показана стандартная ошибка средней

Как видно из рис. 1, внутривенное введение нормальной сыворотки не вызвало значительных изменений в концентрации сахара крови цыплят. После инъекции АИС наблюдалась быстро возрастающая гипергликемия, достигавшая максимума через 6—8 час., затем уровень гликемии постепенно снижался и примерно через 12 час. после инъекции принимал исходное значение.

Повышение концентрации сахара крови после введения АИС является следствием инсулиновой недостаточности. Данные, полученные на млекопитающих, доказывают, что АИС может нейтрализовать эндогенно секретируемый инсулин. Введение ее приводит к гипергликемии у мышей (8). Работами Райта с соавторами показано, что у крыс, кроликов, кошек и других млекопитающих инъекция антител к инсулину вызывает кратковременную гипергликемию (6, 9—11). Авторы пришли к выводу, что такая гипергликемия не является неспецифической реакцией на введенный белок, а обусловлена тем, что введенная в организм сыворотка нейтрализует циркулирующий инсулин. Они также показали, что антитела к инсулину не обладают видовой специфичностью (7). Сходные результаты были получены и другими исследователями (17, 18).

Данные, представленные нами, показывают, что антиинсулиновая сыворотка может успешно применяться для биологической нейтрализации

инсулина у кур. На основании этих данных мы, как и Мирский, можем заключить, что инсулин играет важную роль в регуляции углеводного обмена у птиц. Как указывалось в начале статьи, многие авторы стояли на иной точке зрения и недооценивали значение этого гормона у птиц.

Следует отметить, что в наших опытах гипергликемия, вызванная действием сыворотки, была длительной. Если по данным Мирского<sup>(12)</sup> гипергликемия, полученная таким же способом на утках, длилась не более 5 час., то в наших опытах уровень сахара крови был выше исходного в течение 11—12 час. Этот факт можно объяснить или тем, что сыворотка, примененная нами, обладает более сильной нейтрализующей способностью, или же различием в количестве и скорости поступления в кровь вырабатываемого инсулина у кур и уток.

Институт эволюционной физиологии  
и биохимии им. И. М. Сеченова  
Академии наук СССР  
Ленинград

Поступило  
15 IX 1969

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> O. Minkowski, Arch. Exp. Pathol. u. Pharmacol., 31, 85 (1893). <sup>2</sup> R. Sprague, A. C. Ivy, Am. J. Physiol., 115, 389 (1936). <sup>3</sup> P. Miaihe, Acta endocrinol. Suppl., 36 (1958). <sup>4</sup> C. C. Scott, P. N. Harris, K. K. Chen, Endocrinology, 37, 201 (1945). <sup>5</sup> E. R. Arquilla, A. B. Stavitsky, J. Clin. Invest., 35, 458 (1956). <sup>6</sup> J. Armin, R. T. Grant, P. H. Wright, J. Physiol., 153, 131 (1960). <sup>7</sup> B. H. B. Robinson, R. H. Wright, J. Physiol., 155, 302 (1961). <sup>8</sup> P. J. Moloney, M. Coval, Biochem. J., 59, 179 (1955). <sup>9</sup> J. Armin, R. T. Grant, P. H. Wright, J. Physiol., 153, 146 (1960). <sup>10</sup> P. H. Wright, Nature, London, 183, 829 (1959). <sup>11</sup> N. F. Gunningham, D. S. Patterson, P. H. Wright, J. Physiol., 169, 137 (1963). <sup>12</sup> I. A. Mirsky, R. Jinks, G. Perisutti, Am. J. Physiol., 206, 133 (1964). <sup>13</sup> R. Patterson, J. A. Colwell et al., J. Lab. Clin. Med., 64, 1 (1964). <sup>14</sup> O. Ouchterlony, Progress in Allergy, 5, 1 (1958). <sup>15</sup> S. V. Boyden, J. Exp. Med., 93, 407 (1951). <sup>16</sup> A. Hyvärinen, E. A. Nikkila, Clin. chim. acta, 7, 140 (1962). <sup>17</sup> R. Maller, J. Ashmore, Endocrinology, 71, 673 (1962). <sup>18</sup> C. R. Morgan, A. M. Carpenter, A. Lazarow, Anat. Res., 153, 49 (1965).