

в сенсо-моторной коре, АВ, H δ и H γ значительно улучшается воспроизведение колебаний частотой 2 Гц в H δ и H γ и 25 Гц в H δ .

3. Предполагается, что тормозные эффекты п. Raphe (повышение порогов, РУР, уменьшение проявляемости судорожной реакции, ослабление функциональной «лабильности» нейронов) реализуются через серотонинергические нейромедиаторные системы.

Список литературы

1. Ведяев Ф. П. К физиологии экспериментальных эпилептиформных реакций подкоркового происхождения. — Физиол. журн. СССР, 1960, 46, № 2, с. 167—178.
2. Ведяев Ф. П. Характеристика фокальных механизмов подкорковой эпилепсии. — Физиол. журн. СССР, 1964, 50, № 8, с. 990—999.
3. Зислина Н. Н., Новикова Л. А. Реакция усвоения ритма в коре больших полушарий и ретикулярная формация ствола мозга при наличии вызванного стрихнином очага возбуждения. — Журн. высш. нерв. деятельности, 1961, 11, № 2, с. 338—345.
4. Прахье И. Б. Влияние веществ, изменяющих уровень моноаминов, на аудиогенный судорожный припадок у крыс. — Бюл. эксперим. биологии медицины, 1973, № 9, с. 23—28.
5. Русинов В. С. Об отражении в энцефалограмме процесса иррадиации и реципрокных отношений при замыкании временной связи. — Физиол. журн. СССР, 1960, 46, № 11, с. 1356—1365.
6. Сергиенко Н. Г. Нейроэндокринные механизмы регуляции возбудимости мозга. — В кн.: Актуальные проблемы эндокринологии. Харьков, 1979, с. 30.
7. Фифкова Е., Маршалл Дж. Стереотаксические атласы мозга кошки, кролика, крысы. — В кн.: Буреш Я., Петрань М., Захар И. Электрофизиологические методы исследований. М., 1962, с. 384—426.
8. Bewan W., Chinn R. Sound-induced convulsions in rats treated with reserpine. — J. Compar. and Physiol. Psychol., 1957, 50, N 3, p. 311—314.
9. Boggan W., Seiden L. S. 5-Hydroxytryptophan reversal of reserpine enhancement of audiogenic seizure susceptibility in mice. — Physiol. and Behav., 1973, 10, N 1, p. 9—12.
10. Chen G., Ensor C. R., Bohner B. A facilitation of reserpine on the central nervous system. — Proc. Soc. Exp. Biol., 1954, 86, N 4, p. 507—510.
11. Dahlström A., Fuxe K. Evidence for the existence of monoaminecontaining neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain system neurons. — Acta physiol. scand., 1965, 62, Suppl. 232, p. 1—55.
12. Dahlström A., Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. IV. Distribution of monoamine nerve terminals in the central nervous system. — Acta physiol. scand., 1965, 64, Suppl. 247, p. 39—85.
13. Fox C. A., Eihman J. A rapid method for location of intracerebral electrode tracks. — Stain Technology, 1959, 34, N 1, p. 39—42.
14. Lehmann A. Contribution a l'etude psychophysiologique de l'ours et du rat: These doct. sci. natur. Fac. sci. Paris, 1964. — 89 p.
15. Mantegazzini P. Pharmacological actions of indolealkylamines and precursor aminoacids on the central nervous system. — Handbook of experimental pharmacology. Oxford: Pergamon press, 1966, 19, p. 424—462.

Харьковский
медицинский институт

Поступила в редакцию
8.VIII 1980 г.

УДК 612.112.91—06:618.2

Н. В. Лунина, С. Б. Коваль

РЕАКЦИЯ ЛИЗОСОМАЛЬНОГО АППАРАТА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ НА ДЕЙСТВИЕ СТРЕССОРА НЕИНФЕКЦИОННОЙ ПРИРОДЫ

Формирование в организме адаптационного синдрома (стресс-синдрома) при действии разнообразных факторов среды сопровождается абсолютным нейтрофильным лейкоцитозом [18], что обеспечивается увеличением массы миелоидной ткани костного мозга [3].

Высказано аргументированное предположение, согласно которому реакция миелоидной ткани на действие стрессоров неинфекционной природы обусловлена наличием в нейтрофильных лейкоцитах лизосом, ферменты которых при дегрануляции клеток по-

ступают в кровоток и принимают участие в гуморальной регуляции ряда функций организма. Если стресс-синдром превращается из звена адаптации в звено патогенеза, лизосомальные ферменты также становятся факторами патогенеза [5].

Целью настоящей работы явилось дальнейшее выяснение зависимости между реакцией миелоидной ткани и лизосомальным аппаратом нейтрофильных лейкоцитов на воздействие стрессоров неинфекционной природы, в частности родового акта, рассматриваемого как физиологическая стресс-реакция [4, 6].

Методика исследований

Исследования проведены на 20 перво- и повторнوبرеменных, 15 роженицах и 15 родильницах с нормальным течением беременности, родов и послеродового периода. Контрольную группу составили 12 небеременных практически здоровых женщин детородного возраста.

В периферической крови определяли количество лейкоцитов в единице объема, подсчитывая их в камере Горяева, лейкоцитарную формулу — в мазках крови, окрашенных по Паппенгейму. Вычисляли количество нейтрофильных лейкоцитов в единице объема крови.

Лизосомы в нейтрофильных лейкоцитах выявляли при витальном флюорохромировании акридиновым оранжевым, с оптимальной концентрацией красителя — 100—200 мкг/мл [2, 15]. Катионные белки флюорохромировали примулином в фиксированных мазках [1]. Препараты изучали и фотографировали при максимальном увеличении люминесцентного микроскопа ЛЮАМ-Р1. Интенсивность флюоресценции определяли с помощью цитофлюориметра, сконструированного нами на базе люминесцентного микроскопа, и выражали в относительных единицах РРУ (*phosphor partid unit*) [19].

Активность катепсина Д (КФ 3.4.23.5) рассчитывали в сыворотке крови по разнице E_{280} между контрольным и опытным вариантами [17], определяемой на спектрофотометре СФ-26. В качестве субстрата использовали гемоглобин (*Hemoglobin lover bol*) фирмы Roanol — Hungary.

Показатели периферической крови исследовали у беременных, начиная с 13 нед. до срока родов, с интервалом 4 нед; у рожениц — в трех периодах родов и у родильниц — с первых по восьмые сутки. Активность катепсина Д определяли у беременных в сроках 13—16, 25—28, 33—36, 37—40 нед, во все периоды родов и в послеродовом периоде на 1, 4, 7, 8 сут. Все изучаемые показатели определяли и в плацентарной крови, взятой после рождения ребенка. Результаты сравнивали с данными, полученными в контрольной группе.

Результаты исследований и их обсуждение

Данные, приведенные в таблице, свидетельствуют, что во время беременности происходит постепенное увеличение количества лейкоцитов в единице объема крови, обусловленное нарастанием абсолютного количества нейтрофильных лейкоцитов. Максимальной выраженности нейтрофильный лейкоцитоз достигал в родах с постепенным снижением и нормализацией на 7 сут послеродового периода. Полученные нами результаты в этом отношении согласуются с данными других авторов, отмечающих истинный характер лейкоцитоза рожениц [10, 16].

Исследование лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов с помощью акридинового оранжевого показало уменьшение интенсивности свечения, а следовательно, и количества лизосом, начиная с 37—40 нед беременности. Наиболее выраженное снижение количества лизосом установлено в третьем периоде родов и в плацентарной крови. В послеродовом периоде происходит постепенное увеличение количества лизосом с нормализацией на 7 сут.

При выявлении катионных белков нейтрофильных лейкоцитов примулином отмечена декатионизация лизосом, которая происходит параллельно изменению их количества.

Активность сывороточного катепсина Д повышается, начиная с конца срока беременности (37—40 нед), достигает максимума в период родов и нормализуется в послеродовом периоде. Следовательно, уменьшение количества лизосом (дегрануляция нейтрофильных лейкоцитов) сопровождается нарастанием активности лизосомального катепсина Д.

Установленная нами реакция лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов при беременности и родах позволяет предположительно объяснить некоторые аспекты участия лизосомальных ферментов в механизме адаптации-деадаптации организма.

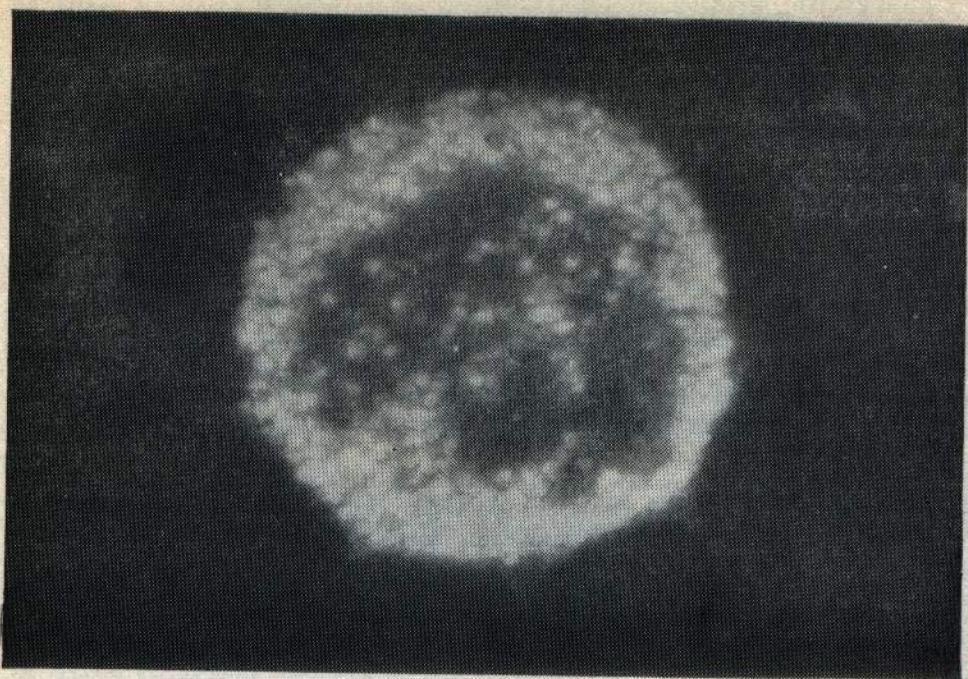


Рис. 1. Лизосомальные катионные белки нейтрофильных лейкоцитов крови небеременных женщин.
Флюорохромирование примулином. Об. 90X, ок. 15X.

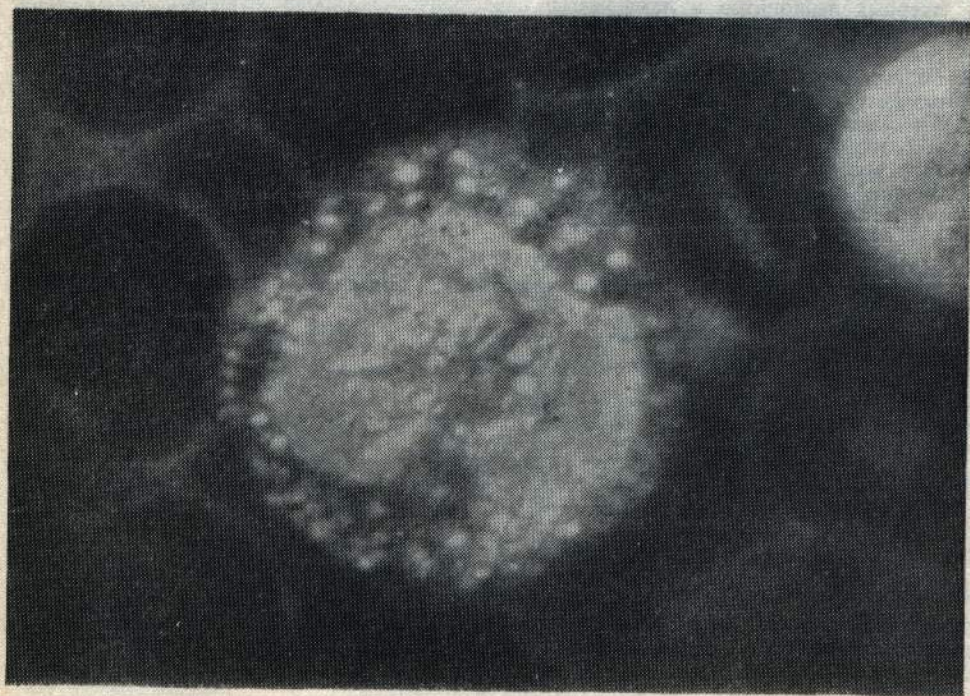


Рис. 2. Лизосомальные катионные белки нейтрофильных лейкоцитов крови женщины в III периоде родов.
Окраска и увеличение те же, что и на рис. 1.

Согласно современным представлениям кининообразующая активность сосредоточена главным образом в лизосомальных гранулах нейтрофильных лейкоцитов [9]. Поэтому появление в крови избытка нейтрофилов, их дегрануляция и увеличение лизосомальных ферментов ведет к активации фактора Хагемана [12], который служит исходным пунктом для включения любой из трех систем крови — кининовой, свертывающей и фибринолитической, рассматриваемых в качестве единой, структурно и функционально определенной «полисистемы» [12]. Этим, возможно, и объясняется определенная роль нейтрофильных лейкоцитов в свертывании крови [7], изменении гемокоагуляции во время беременности и родов [11], а также регуляции моторной функции матки, для которой доказано наличие кининорецепторов [8]. По-видимому, вероятен и еще один механизм участия лизосомальных ферментов нейтрофильных лейкоцитов в поддержании моторной функции матки. В частности, лизосомальные ферменты могут активировать таковые мышцы матки, которые бедны собственными лизосомами [13], но принимают непосредственное участие в биоэнергетике миоцита [14]. Подобное допущение возможно, так как известно, что нейтрофильные лейкоциты мигрируют в различные органы, в том числе и мышцу матки.

Таким образом, по нашему мнению, активация миелоидной системы при различных стрессорных ситуациях, в том числе при беременности и родах, может быть обусловлена включением лизосомальных ферментов нейтрофильных лейкоцитов в гуморальные регуляторные механизмы на периферии.

Список литературы

1. Венглинская Е. А., Рукавцов Б. И., Шубич М. Г. Флюоресцентно-цитохимическое выявление свободного цитоплазматического катионного белка в лейкоцитах. — Лаб. дело, 1975, № 5, с. 270—273.
2. Головацкий А. С. Особенности динамики флуоресценции нейтрофильных сегментоядерных лейкоцитов и лимфоцитов периферической крови человека, прижизненно флуорохромированных акридиновым оранжевым. — Цитология, 1978, 24, № 4, с. 480—483.
3. Горизонтов П. Д. Стресс и реакция органов кроветворения. — Патол. физиология и эксперим. терапия, 1974, вып. 2, с. 3—6.
4. Куликова Н. Н., Панкратова К. В., Моисеенко Н. Т. Изменение активности щелочной фосфатазы у женщин с нормальным и осложненным послеродовым периодом. — Акушерство и гинекология, 1972, № 3, с. 57—58.
5. Лунина Н. В., Козюк П. М. Влияние острой кровопотери на лизосомальный аппарат нейтрофильных лейкоцитов. — Патол. физиология и эксперим. терапия, 1978, вып. 2, с. 76—78.
6. Малек И., Мойжищкова Э., Блажкова П., Масак Я. Реакция белого компонента крови при спонтанных родах, начинающихся родовыми болями. — Акушерство и гинекология, 1959, № 3, с. 33—39.
7. Мельников А. Ф., Горшунова Н. К. Влияние лейкоцитов здоровых людей на свертывание крови. — Лаб. дело, 1977, № 2, с. 78—81.
8. Михайленко Е. Т., Курский М. Д., Чуб В. В. Биохимия родового акта и его регуляция. — Киев: Здоровье, 1980. — 184 с.
9. Ойвин И. А., Королева Л. В. Новые представления об участии лейкоцитов в воспалении. — Патол. физиология и эксперим. терапия, 1971, вып. 4, с. 3—6.
10. Орлова В. А. Морфологические изменения периферической крови у рожениц с различными вариантами родовой деятельности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Саратов, 1963. — 12 с.
11. Скипетров В. П. Механизм изменений гемокоагуляции в родах. — Казан. мед. журн., 1970, № 6, с. 18—22.
12. Чернух А. М., Гомазков О. А. О регуляторной и патогенетической роли калликреин-кининовой системы в организме. — Патол. физиология и эксперим. терапия, 1976, вып. 1, с. 5—16.
13. Шапиро Ю. Л., Наумова Т. А. Адаптация системы нейтрофилов к условиям длительного полного алиментарного голодания. — Патол. физиология и эксперим. терапия, 1980, вып. 3, с. 27—32.
14. Фролов В. А. Лизосомная концепция. — В кн.: XI Всесоюз. конф. по электрон. микроскопии. Таллин 1979. М., 1979, т. 2.
15. Allison A. C., Young M. R. Vital staining and fluorescence microscopy of lysosomes. — In: Lysosomes in biology and pathology. Amsterdam, 1973, 2, p. 600—628.
16. (Димитров Д. Я.) Димитров Д. Я. Анемии беременных. — София: Медицина и физкультура, 1977. — 160 с.
17. (Barret A. J., Chit M. F.) Баррет А. Дж., Хит М. Ф. Лизосомальные ферменты. — В кн.: Лизосомы / Под ред. Дж. Дингла. М.: Мир. 1980. с. 25—156.

18. (Ilkov N.) Илков Н. Бели кръвни клетки. — София: Българ. АН, 1977, — 259 с.
19. West S. S., Golden I. F. Phosphorus particles as microscopic fluorescence standards. — J. Histochem. and Cytochem., 1976, 24, N 4, p. 609—610.

Кафедра анатомии
и физиологии
человека и животных
Ворошиловградского педагогического института

Поступила в редакцию
15.IV 1981 г.

УДК 612.438—018—001.8

Ю. А. Гриневич, И. С. Никольский, В. В. Овсиенко, О. Д. Черненко

ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ФРАКЦИЙ ЭКСТРАКТА ТИМУСА

Из экстракта тимуса выделено несколько веществ, проявляющих активность в отношении клеток лимфоидного ряда при самых разнообразных ситуациях *in vivo* и *in vitro* [1, 4]. Для получения этих факторов разработаны специальные способы фракционирования, в ходе которых зачастую происходит потеря веществ, биологическая активность которых не выявляется в используемом тесте. Между тем очень важно исследование различных гуморальных факторов, действие которых может быть направлено на отдельные субпопуляции лимфоцитов, ибо такой подход открывает перспективу регуляции иммунологической реактивности, расстроенной в результате дефекта или преобладания одной из линий клеток.

Методика исследований

Фракционировали экстракт тимуса теленка, полученный с некоторыми отклонениями [11] (фракция 1А). Количество белка определяли по методу Лоури [13]. Активность фракций тестировали по их влиянию на антителолиз [12], образование мастоцитомоноцитарных розеток (МЛР) [5], формирование розеток костномозговыми клетками морской свинки с эритроцитами кролика [2], чувствительность спонтанных селезеночных розеткообразующих клеток (РОК) тимэктомизированных мышей к антилимфоцитарной сыворотке (АЛС) [8], а также по восстановлению способности к спонтанному розеткообразованию прогретых при 45 °С тимоцитов морской свинки [6].

Результаты исследований

Фракцию 1А экстракта тимуса получали со следующими отклонениями от классической методики: гомогенат тимуса центрифугировали при 3000g, а не при 105 000g. Надосадочную жидкость обрабатывали не десятью, а пятью объемами ацетона. Дальнейшую очистку экстракта проводили по оригинальной методике. Ацетоновый порошок растворяли в физиологическом растворе. Не растворяющийся материал отделяли центрифугированием при 10 000 g. Надосадочную жидкость разделяли высаливанием твердым сульфатом аммония. Собирали фракции, высаливающиеся при 25, 50, 75 и 100 % насыщении сульфата аммония. После диализа против физиологического раствора получили четыре фракции, которые обозначили соответственно 0—25, 25—50, 50—75 и 75—100. 100 мкг одной из фракций вводили подкожно новорожденным нелинейным мышам, через 10 дней животным вводили внутривенно $2,5 \cdot 10^8$ эритроцитов барана и на четвертый день в селезенке определяли количество антителообразующих клеток (АОК).

У контрольных животных, получавших физиологический раствор, в селезенке образовывалось $2,3 \pm 0,4$ АОК на 10^6 ядросодержащих клеток. Введение фракций экстракта тимуса приводило к увеличению количества АОК: при инъекции фракции — 0—25 до $13,8 \pm 3,8$ ($p < 0,01$), фракции 25—50 до $9,0 \pm 3,4$ ($p < 0,05$) и фракции 50—75 до $6,8 \pm 2,0$ ($p < 0,05$). Введение фракции 75—100 существенно не сказывалось на выходе АОК — $2,8 \pm 1,3$ ($p > 0,5$).